

ERGEBNISSE DER BIOLOGIE

HERAUSGEGEBEN

VON

K. v. FRISCH · W. RUHLAND

MÜNCHEN

LEIPZIG

H. STUBBE · W. VOGT

BERLIN-DAHLEM

MÜNCHEN

REDIGIERT VON

W. RUHLAND

LEIPZIG

SECHZEHNTER BAND

MIT 122 ABBILDUNGEN



BERLIN
VERLAG VON JULIUS SPRINGER
1939

ISBN-13:978-3-642-89196-0 e-ISBN-13:978-3-642-91052-4
DOI: 10.1007/978-3-642-91052-4

ALLE RECHTE, INSBESONDERE DAS DER ÜBERSETZUNG
IN FREMDE SPRACHEN, VORBEHALTEN.

COPYRIGHT 1939 BY JULIUS SPRINGER IN BERLIN.

SOFTCOVER REPRINT OF THE HARDCOVER 1ST EDITION 1939

Inhaltsverzeichnis.

	Seite
Schopfer , Professor Dr. W. H., Bern. Vitamine und Wachstumsfaktoren bei den Mikroorganismen, mit besonderer Berücksichtigung des Vitamins B ₁ . (Mit 53 Abbildungen)	1
v. Ledebur , Dr. Frhr. Joachim, Neustadt im Schwarzwald. Der Sauerstoff als ökologischer Faktor. (Mit 7 Abbildungen)	173
v. Ledebur , Dr. Frhr. Joachim, Neustadt im Schwarzwald. Über die Atmung der Schwämme und Coelenteraten . . .	262
Kahmann , Dozent Dr. Hermann, München. Von der Leistung des JACOBSONSchen Organs bei den Wirbel- tieren. (Mit 20 Abbildungen)	292
Bauer , Dozent Dr. Karl, München. Über Explantation „in vitro“. (Mit 42 Abbildungen) . . .	336
Namenverzeichnis	513
Sachverzeichnis	525
Inhalt der Bände I—XVI	537

Vitamine und Wachstumsfaktoren bei den Mikroorganismen, mit besonderer Berücksichtigung des Vitamins B₁.

Von WILLIAM H. SCHOPFER, Bern.

Mit 53 Abbildungen.

Inhaltsübersicht.		Seite
I. Einleitung		4
II. Nachweis und Eigenschaften der Wachstumsfaktoren		7
A. Wirkung in geringen Mengen		8
B. Das Bedürfnis an Wachstumsfaktoren als Folge des Verlustes einer Synthesefähigkeit.		10
C. Die Wachstumsfaktoren als organische Verbindungen. Die Pseudowachstumsfaktoren mineralischer Natur		12
D. Chemisch-physikalische Eigenschaften der Nährlösungen		14
III. Wirkung verschiedener aktiver Substanzen auf <i>Aspergillus niger</i>		17
A. Die B-Substanzen (B ₁ und B ₂) von NIELSEN		17
B. Chemische Natur der B ₂ -Substanzen		20
C. Bildung der B ₂ -Substanzen durch <i>Aspergillus</i>		20
D. Bildung der A-Substanzen durch <i>Aspergillus</i> und andere Mikroorganismen		21
E. Wirkungsweise der B ₂ -Substanzen		21
F. Wirkung der Vitamine B ₁ und B ₂ auf <i>Aspergillus</i>		21
IV. Das B ₁ -Vitamin (Aneurin, Thiamin) als Wachstumsfaktor. Mikroorganismen, die Aneurin allein benötigen		22 23
A. Azelluläre Organismen mit coenocytischer Struktur (Phycocyceten)		23
1. <i>Phycomyces</i> und andere Zygomyceten		23
a) Allgemeines. Die unreine Maltose als Wirkstoffquelle		23
b) Feststellung des Optimums. Quantitative Wirkung des Aneurins		26
c) Entwicklung und Aneurinwirkung als Funktion der Konzentration		26
d) Entwicklung und Aneurinwirkung als Funktion der Zeit		27
e) Der Verlust eines Synthesevermögens als Ursache des Aneurinbedürfnisses		28
f) Einfluß äußerer Bedingungen auf die Aneurinwirkung		30
g) Das Bedürfnis an Wachstumsfaktoren im Laufe der Entwicklung		30
h) Die Aufnahme des Aneurins durch den Thallus von <i>Phycomyces</i>		31
i) Beziehungen der Vitaminwirkung zum allgemeinen Stoffwechsel		31
Beziehungen zum N-Stoffwechsel		31

	Seite
j) Zahlenmäßige Feststellung der Verhältnisse . . .	33
α) Trockengewicht/Vitamin	34
β) Vitamin/Trockengewicht	35
k) Mucorineen, die nicht auf Aneurin angewiesen sind .	37
l) Hemmende Wirkung des Aneurins auf <i>Rhizopus</i> - Arten	39
m) Der Faktor M. — Wirkung des Weizenkeimextraktes	40
2. <i>Phytophthora</i> und andere Oomyceten	41
B. Einzellige Organismen	42
1. Protobasidiomyceten — <i>Ustilago violacea</i>	42
a) Saponin als Wirkstoffquelle	44
b) Wirkung des Aneurins. Feststellung des Optimums. Quantitative Wirkung	44
c) Andere <i>Ustilago</i> -Arten in ihren Beziehungen zum Aneurin	50
2. Bakterien	50
a) Bakterien, die das Aneurin synthetisieren	50
b) <i>Staphylococcus aureus</i>	51
c) Propionsäurebakterien	51
d) <i>Azotobacter</i>	51
e) <i>Rhizobium</i>	51
3. Hefen	53
4. Protozoen	54
a) Flagellaten	54
b) Ciliaten	54
C. Mehrzellige Organismen	54
1. Autobasidiomyceten — Polyporaceen	54
a) Bakterienkulturen als Wirkstoffquellen	55
b) Wirkung des Aneurins	57
c) Vergleich der Wirkung des reinen Aneurins mit der- jenigen von Hefe- und Malzextrakten. Der Stickstoff- winkel	58
2. Ascomyceten	59
a) <i>Helvella infula</i>	59
b) Arten, die nicht oder nicht vollständig auf Aneurin angewiesen sind	60
V. Die Bestandteile des Aneurins, Pyrimidin und Thiazol als Wach- tumsfaktoren	60
A. Pyrimidin und Thiazol als Aneurinersatz bei <i>Phycomyces</i> und <i>Staphylococcus</i>	61
B. <i>Rhodotorula rubra</i> — ein Pyrimidinpilz	62
C. <i>Mucor Ramannianus</i> — ein Thiazolpilz	64
D. Gruppierung der Organismen nach ihrem Verhalten gegenüber dem Aneurin und seinen Bestandteilen	65
1. Der Typus von <i>Glaucoma piriformis</i> und <i>Phytophthora</i> <i>cinnamomi</i>	66
2. Der Typus von <i>Phycomyces</i> und <i>Staphylococcus aureus</i>	66
3. Der Typus von <i>Rhodotorula rubra</i>	67
4. Der Typus von <i>Absidia ramosa</i> und <i>Parasitella simplex</i>	67
5. Der Typus von <i>Mucor Ramannianus</i>	67
E. Das Aneurinbedürfnis in quantitativer Hinsicht	72
Der „ökonomische Koeffizient für Wachstumsfaktoren“ . .	73

	Seite
F. Das Aneurinbedürfnis in Beziehung zur systematischen Stellung der Mikroorganismen	74
G. Die Spezifität der Wirkung des Aneurins und seiner Komponenten	74
1. Substitutionen im Aneurinmolekül	75
2. Substitutionen in den Aneurinkomponenten	77
a) Thiazolderivate	77
b) Pyrimidinderivate	80
3. Spezifität und Konzentration	82
4. Die Bestandteile des Aneurins und der Faktor M	82
H. Der thermische Abbau des Aneurins	83
VI. Allgemeines über die Wirkung des Aneurins	85
A. Wirkungsweise des Aneurins	85
B. Der Aneurinstoffwechsel	88
1. Aneurinorganismen	88
2. Pyrimidin-Thiazolorganismen	88
3. Pyrimidin- oder Thiazolorganismen	90
4. Absorption und Hydrolyse des Aneurins	92
C. Biosynthese des Aneurins	93
D. Das Aneurinbedürfnis und das Prinzip der abgestuften Heterotrophie	95
E. Variationen in der Synthesefähigkeit. Einfluß der allgemeinen Ernährungsbedingungen. Einfluß innerer und äußerer Faktoren	98
F. Das Aneurin als physiologischer Begriff	101
VII. Die Biosubstanzen	102
A. Allgemeines. Arbeitsmethoden. Einheiten	102
B. Bios I (Mesoinositol)	104
Spezifität der Wirkung	105
C. Bios II (Biotin von KÖGL, Bios II b von LASH MILLER). Pantothensäure	106
D. Die Faktoren des Kohlefiltrats: Bios III von KÖGL, II a von LASH MILLER: β -Alanin, l-Leucin. Andere Aminosäuren	108
E. Das Aneurin als Biosstoff	110
F. Die Bestandteile des Aneurins	111
G. Bios V	112
H. Sterol	112
I. Wirkungsweise und Funktion der Biosstoffe	114
K. Die Gärungsfaktoren. Der Faktor Z	115
L. Biosbedürftige Organismen	116
1. Bakterien	116
a) <i>Staphylococcus aureus</i>	116
b) Milchsäurebazillen	116
2. Ascomyceten	116
a) <i>Nematospora gossypii</i>	116
b) <i>Melanconium betulinum</i>	118
c) <i>Valsa pini</i> , <i>Lophodermium pinastri</i> , <i>Hypoxyylon pruinatam</i>	118
3. Imperfekten	119
M. Die Variation des Synthesevermögens für Biosstoffe. Biosstoffe in verschiedenen Organismen und in ihren Kulturlösungen	120
VIII. Lactoflavin und Vitamin B ₆ (Adermin)	121
A. Mikroorganismen, die auf Lactoflavin angewiesen sind (Milchsäurebazillen)	121

	Seite
B. Spezifität der Wirkung	122
C. Die thermostabilen Faktoren — Vitamin B ₆ — „Bios“. —	123
IX. Ascorbinsäure	124
X. Carotin und A-Vitamine	124
XI. Der Faktor X: Hämatin	126
A. Hämatinbedürftige Organismen	127
B. Spezifität der Wirkung	127
C. Wirkungsweise des Hämatins. Seine Beziehungen zum Cytochrom	128
XII. Der Faktor V: Codehydrasen	129
A. Wirkungsweise des Faktors V (Cozymase)	129
B. Die Faktoren X und V und das KEILIN-WARBURGSche System	131
XIII. Nicotinsäure	131
A. Spezifität der Wirkung	133
B. Wirkungsweise	134
XIV. Die Aminosäuren als Bakterienwirkstoffe	135
XV. Uracil	135
XVI. Pimelinsäure	136
Spezifität der Wirkung	136
XVII. Cholesterol	137
Spezifität der Wirkung	138
XVIII. Die Hormone der Auxingruppe als Wachstumsfaktoren für Mikroorganismen	139
XIX. Tierische Hormone als Wachstumsfaktoren bei Mikroorganismen. Das Folliculin.	140
XX. Allgemeine Übersicht über die chemisch bekannten Wirkstoffe vitaminischer Natur	141
A. Die Wachstumsfaktoren als Coenzyme	142
B. Wachstumsfaktoren und Virus	142
XXI. Rückblick. Eigenschaften und Definition der Wachstums- faktoren	143
XXII. Symbiose, Parasitismus und Wachstumsfaktoren	147
A. Einseitige oder gegenseitige Stimulation. Satellitismus	147
B. Darmsymbionten	147
C. Orchideensymbionten	148
D. Künstliche Symbiose	149
E. Parasitismus	150
XXIII. Kreislauf der Wachstumsfaktoren	151
XXIV. Schlußbetrachtungen	152
Literatur	153

I. Einleitung.

Die Pflanzenphysiologen befanden sich noch vor ein paar Jahren in einer merkwürdigen Lage in bezug auf die Vitaminfrage.

Man wußte zwar, daß die regelmäßige und normale Synthese der meisten Vitamine nur in der Pflanze erfolgen kann und daß die Tiere in dieser Hinsicht von den Pflanzen abhängig sind. Dagegen war es bis vor kurzer Zeit nicht möglich, die Rolle dieser Substanzen im Stoff-

wechsel der Pflanze festzustellen. Allerdings wurde mehrfach die Annahme geäußert, daß die Vitamine eine Bedeutung für die niederen Pflanzen [Vitamin D von FUNK (1924), FUNK und FREEMAN (1923), Bios von WILDIERS (1901) für Hefen wie auch für Bakterien] besitzen. Eine tiefere Einsicht in die Beziehungen zwischen Vitaminen und Mikroorganismen war aber nicht zu erwarten, solange diese Stoffe nicht in kristallisiertem, chemisch reinem Zustande zur Verfügung standen. Dadurch wurde die Erforschung dieser Probleme lange Zeit sehr erschwert. Auch für die höheren Pflanzen wurde auf Grund der Beobachtungen von BOTTOMLEY (1914, 1917) und MOCKERIDGE (1917) angenommen, daß sie für Wachstum und Stoffwechsel besonderer Aktivatoren bedürfen. Man bezeichnete diese Stoffe als Auximone und fand, daß sie ähnlich wie Vitamine wirken.

Die verschiedenen, an Mikroorganismen angestellten Untersuchungen führten zum Schlusse, daß die Aktivatoren des Wachstums Stoffe sein müssen, die den Vitaminen des Tierreiches verwandt und analog sind. (Der Begriff Vitamin wird hier in seinem engeren Sinne verwendet.)

Die letzten Jahre brachten nun auf dem Gebiete der Vitaminchemie außerordentlich schnelle und bedeutende Fortschritte. Dadurch sind heute die Biologen in der Lage, mit genügenden Mengen kristallisierter Vitamine arbeiten zu können. Es wurde damit möglich, die Wirkung dieser Stoffe auf die Pflanzen zu untersuchen und damit die nötige Verbindung mit den an Tieren gewonnenen Ergebnissen herzustellen. Wir wissen heute, daß die Vitaminversorgung, sowohl für die niederen als für die höheren Pflanzen, von ausschlaggebender Bedeutung ist (Abb. 1 und 2). Die Vitamine spielen hier eine ebenso wichtige, vielleicht noch bedeutendere Rolle als beim Tier; denn wir haben ja hier die Phase der Synthese dieser Stoffe vor uns. Es ist deshalb auch begreiflich, daß

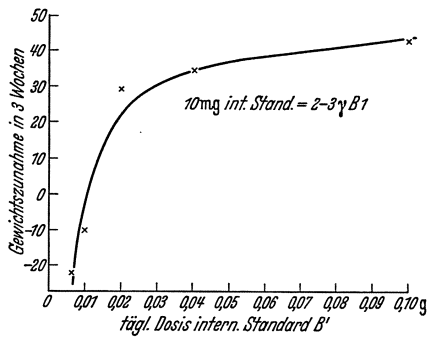


Abb. 1. Gewichtszunahme der Ratte mit verschiedenen Vitamindosen in 3 Wochen. [Nach Miss COWARD (2).]

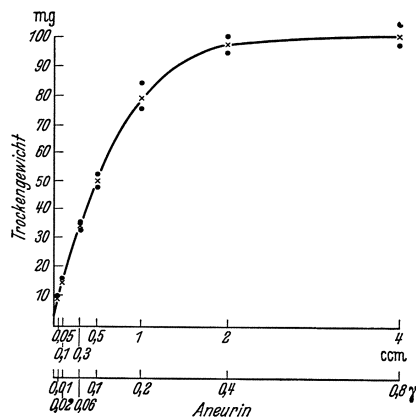


Abb. 2. Entwicklung von *Phycomyces* als Funktion der Aneurindosis.

durch diese Ausdehnung der Vitaminforschung auch der Begriff des Vitamins heute erweitert werden muß. Die neu ermittelten Tatsachen gehen weit über den Rahmen hinaus, den uns die Beobachtungen am Tier geliefert haben.

Die Fortschritte in unserer Erkenntnis der Wirkstoffe sind eng verknüpft mit der Entwicklung der Mikrobiologie überhaupt. Das Problem der Wachstumsfaktoren erschien um so klarer, je feiner und genauer die Kulturmethoden ausgearbeitet wurden. Man darf wohl sagen, daß diese Entwicklung von zwei klassischen Arbeiten ausging, die, obschon sie aus der gleichen Schule kamen, doch scheinbar in Widerspruch zueinander standen. Es sind dies die Arbeiten von RAULIN über die Kultur eines Schimmelpilzes in synthetischer Nährlösung (synthetisch im damaligen Sinne) und von PASTEUR über die Züchtung von Hefen in genau definierter Lösung und über die stimulierende Wirkung eines Zusatzes von Extrakten aus Früchten.

RAULIN (1870) zeigte in seinen „Recherches chimiques sur la végétation“, daß ein Schimmelpilz in einer synthetischen Nährlösung von bestimmter Zusammensetzung kultiviert werden kann. Allerdings benützte er dazu Kandiszucker, von dem man heute weiß, daß er mineralische Verunreinigungen sowie auch Wachstumsfaktoren, die auf Mikroorganismen wirken, in bedeutenden Mengen enthält. Diese für die Entwicklung der Mikrobiologie grundlegende Arbeit konnte allerdings auch zu der Ansicht verleiten, daß alle Mikroorganismen unter diesen Bedingungen, ohne Zusatz eines besonderen Wirkstoffes kultivierbar seien.

PASTEUR (1, 3) seinerseits beobachtete, daß Hefen in der von ihm zusammengestellten synthetischen Nährlösung wohl wuchsen, daß aber die Entwicklung durch Zugabe von geringen Mengen organischer Substanzen erheblich gefördert wurde. Ebenso wurde die Milchsäuregärung, die Entwicklung der Milchsäurebakterien durch Zugabe von Extrakten aus Früchten stimuliert, aber auf sehr ungleiche Weise [PASTEUR (2)]. Es handelt sich hier sicher um die erste Beobachtung über die besondere, fördernde Wirkung pflanzlicher Extrakte, die den gewöhnlichen Nährstoffen beigefügt wurden, und damit um die erste Beobachtung über Wirkstoffe. Die Tatsache war festgestellt, es fehlte nur noch die Bezeichnung.

Die umfangreiche ältere Literatur wird hier nicht besprochen. Zusammenstellungen findet man bei FUNKE (1924), KNORR (1925), SERGENT (1928), RANDOIN und SIMONNET (1927), WINTERSTEIN und FUNK (1933) und KNIGHT [1935 (2)]. Eine vollständige Bibliographie der bis 1933 erschienenen Arbeiten gibt PESKETT (1933).

Anläßlich des Kongresses für Mikrobiologie in Paris erschien eine knappe, aber sehr übersichtliche Zusammenfassung von LWOFF [1938 (5)] über den gegenwärtigen Stand des Problemes, besonders in bezug auf die Chemie der Wachstumsfaktoren. Diese Arbeit kann als Diskussionsgrundlage dienen. Die neueste Darstellung von KOSER und SAUNDERS [1938 (4)] befaßt sich besonders mit den Wachstumsfaktoren der Bakterien.

Das Aneurin ist der Wachstumsfaktor, dessen Bedeutung am besten bekannt ist und dessen Wirkung für zahlreiche Organismen erwiesen ist. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sollen hier so umfassend wie möglich dargestellt werden, während die anderen Faktoren an Hand der neuesten Literatur etwas kürzer behandelt werden. Wir werden uns grundsätzlich auf die chemisch bekannten Faktoren beschränken.

Wir dürfen wohl hoffen, daß diese Zusammenfassung, die so viele Gebiete der allgemeinen Biologie berührt, auch den Nichtspezialisten einen Einblick in die sehr aktuellen Probleme der Wachstumsfaktoren zu geben vermag.

Es muß aber ausdrücklich darauf hingewiesen werden, daß die Frage der Verwendung von Mikroorganismen für Vitaminbestimmungen [Hefetest von R. J. WILLIAMS (4), *Phycomyces*-Test von SCHOPFER und JUNG (7), *Glaucoma*-Test von LWOFF für Aneurin usw.] hier nicht erörtert werden soll.

II. Nachweis und Eigenschaften der Wachstumsfaktoren.

Die Methoden für den Nachweis von Wirkstoffen sind genau dieselben, wie sie für den Nachweis von Vitaminen bei Tieren von jeher angewendet wurden.

1. Die Feststellung, daß irgendein Mikroorganismus in einer rein synthetischen Nährlösung (im modernen Sinne des Wortes) nur schlecht oder gar nicht wächst.

2. Feststellung, daß in der synthetischen Nährlösung eine oder mehrere unbekannte Substanzen fehlen, die in verschiedenen unreinen Materialien oder Rohprodukten verbreitet sind. Die Zugabe dieser Stoffe ermöglicht eine gute Entwicklung.

3. Versuch, die wirksamen Substanzen durch verschiedene Methoden anzureichern. Dadurch sollen die Ballaststoffe des Ausgangsmaterials entfernt werden, auch wenn damit gelegentlich ein Verlust an Wirkstoffen verbunden ist. Viele dieser Methoden haben heute nur noch historisches Interesse.

4. Feststellung einiger allgemeiner Eigenschaften der angereicherten Substanz: Hitzebeständigkeit, Zerstörung durch Säuren und Laugen, Oxydierbarkeit, Adsorption, Dialyse usw.

5. Aufstellung einer Hypothese über die chemische Natur der als wirksam erkannten oder vermuteten Substanz; Bestimmung ihrer möglichen Zugehörigkeit zu chemischen bekannten Stoffen. Auf Grund dieser Fragestellung kann nun der Chemiker an das Problem herantreten und versuchen, die wirksame Substanz zu isolieren und rein darzustellen.

Deckt sich die Wirkung der chemisch rein isolierten Substanz quantitativ mit derjenigen des Ausgangsmaterials, so kann geschlossen werden,

daß ein einziger Faktor vorliegt. Ist dies aber nicht der Fall, was fast die Regel ist (s. Bios, S. 107), so können andere unbekannte Wachstumsfaktoren angenommen werden, sofern nicht eine Nährstoffwirkung im Spiele ist.

Das Ausgangsmaterial, das für den Nachweis eines Wirkstoffes benützt wird, kann sehr verschiedener Art sein: Pflanzliche oder tierische Extrakte (Blätter, Wurzeln, Samen, Keimlinge), ungenügend gereinigte chemische Substanzen (Saccharose, Maltose, Saponin usw.), Stoffwechselprodukte anderer Mikroorganismen usw. Bakterien fördern (nach FRIES) das Wachstum von *Polyporus*. Dieser Fall erscheint besonders interessant, da wir in der Literatur zahlreiche Angaben über die gegenseitige Förderung zweier auf demselben Substrat zusammen gezüchteter Mikroorganismen finden. Ebenso wissen wir, daß in gewissen Fällen die Entwicklung eines Organismus auf einem bestimmten Nährboden erst möglich ist, nachdem das Substrat durch einen anderen Mikroorganismus verändert („vorbereitet“) worden ist. Viele dieser Erscheinungen können zum Teil damit erklärt werden, daß der eine Partner im Nährboden einen Wirkstoff bildet, der die Entwicklung des anderen Partners fördert oder ermöglicht (s. Symbiose und Wirkstoffe, S. 147). Diese „vorbereitende“ Wirkung eines Mikroorganismus kann selbstverständlich auch durch andere Veränderungen des Substrates zustande kommen, z. B. durch Enzymwirkung.

In vielen Fällen kann allerdings die fördernde Wirkung durch den hemmenden Einfluß eines anderen Stoffwechselproduktes verdeckt werden.

Wenn man mit Rohextrakten arbeitet, ist zu bedenken, daß ein Wachstumsfaktor in gebundener Form, inaktiv, vorhanden sein kann. Seine volle Wirkung tritt erst nach dem Freiwerden zutage. So werden nach DAGYS (4) gebundene Hefewuchsstoffe aus Kleberproteinen des Weizensamens durch Proteolyse mittels Papayotin oder Pepsin frei aufgeschlossen.

A. Wirkung in geringen Mengen.

Die allgemeine theoretische Definition des Wachstumsfaktors entspricht genau der klassischen Definition der Vitamine, wenn man die Art der Bildung (exogen oder endogen) nicht berücksichtigt.

Denken wir uns eine Nährlösung, die Wasser, mineralische Salze, eine Kohlenstoffquelle und eine Stickstoffverbindung enthält. Alle diese Stoffe sind assimilierbar, sie sind auch in genügender Menge vorhanden. Ein gewöhnlicher, ubiquistischer Schimmelpilz, wie z. B. *Aspergillus niger*, entwickelt sich in dieser Nährlösung sehr gut. Sowohl seine Stoffbilanz wie auch die Energiebilanz sind normal. Die Nährlösung ist also für diesen Pilz ausreichend und günstig.

Andere Pilze oder Bakterien, die theoretisch in dieser Nährlösung auch gedeihen sollten, entwickeln sich nicht. Sie benötigen Spuren einer besonderen, unbekanntenen Substanz, die in dieser synthetischen Nährlösung nicht enthalten ist. Handelt es sich dabei um einen Stoff, der in kristallisiertem Zustande erhältlich ist, so bemerken wir, daß die vom Mikroorganismus benötigte Menge unendlich klein ist. Dies ist nach unserer Ansicht die erste Eigenschaft eines Wachstumsfaktors. Im gegebenen Fall kann allerdings die Feststellung, ob es sich um die Wirkung eines Wachstumsfaktors oder um eine Nährstoffwirkung handelt, schwierig sein. Diese Frage muß für jeden besonderen Fall neu entschieden werden.

Gedeiht eine Kultur mit 0,1 γ einer fördernden Substanz, 1 mg einer Aminosäure und 2 g Zucker, so ist die erstere nach unserer Ansicht ohne weiteres als Wachstumsfaktor zu bezeichnen, und ebenso sicher muß der Zucker als Nährstoff gelten. Die Aminosäure steht an der Grenze; sie besitzt nicht mehr die Eigenschaften eines eigentlichen Wachstumsfaktors. Wie ein Nährstoff wird sie zum Aufbau des Cytoplasmas verwendet, wenn auch in geringerem Umfange als der Zucker. Die von einem Organismus benötigte Menge einer Substanz ist ein wichtiges Kriterium für ihre Bedeutung. Sie ist, wie wir später sehen werden, der einzige Anhaltspunkt, der uns eine Unterscheidung zwischen Wirkstoffen vitaminischer Natur und den gewöhnlichen Nährstoffen mit plastischer oder energetischer Wirkung geben kann.

Wenden wir nun diese Überlegungen auf einen konkreten Fall, nämlich auf das Wachstum von *Phycomyces* mit Aneurin als Wachstumsfaktor an. Wir haben hier bei unseren üblichen Kulturmethode: Nährlösung 25 ccm, Glukose 2500 mg, Asparagin 25 mg, KH_2PO_4 37,5 mg, MgSO_4 12,5 mg, Trockengewicht der Ernte 100 mg und Aneurin 0,0004 mg. Es besteht hier kein Zweifel, daß die Bedeutung des Aneurins nicht in einer plastischen oder energetischen, banalen Wirkung liegt, sondern daß es sich um einen eigentlichen Wachstumsfaktor handelt.

LWOFF [1938 (5)] nimmt an, daß die Unfähigkeit eines Organismus, die SO_4^- - und NO_3^- -Ionen zu reduzieren, mit dem gleichen allgemeinen Mechanismus zusammenhängt wie die Unfähigkeit, das Pyrimidin und das Thiazol zu Aneurin zu vereinigen (vgl. S. 93). Dieses Unvermögen bedingt das Bedürfnis nach reduziertem Schwefel und Stickstoff ($-\text{SH}$ und $-\text{NH}_4$); beide Substanzen werden von LWOFF ebenso wie das Aneurin als Wachstumsfaktoren betrachtet. Wir können ihm in dieser Interpretation nicht beipflichten. Es gibt schließlich viele Organismen, welche Nitrate nicht verwerten können. Ammoniumsalze, die man ihnen an Stelle von Nitraten geben muß, dienen als Nährstoffe, und der Stickstoff wird in bedeutenden Mengen zum Aufbau ihres Cytoplasmas gebraucht. Niemand wird in diesem Falle das Ammoniak als Wirkstoff bezeichnen wollen. Mit gleichem Rechte könnte man annehmen, daß für Organismen, die nicht imstande sind, CO_2 zu reduzieren und durch

eigene Synthese Kohlehydrate aufzubauen, Zucker als Wachstumsfaktor zu betrachten wäre. Damit käme man zu einem sehr weiten Begriff dieser Substanzen, indem alle Stoffe, die zum Aufbau der lebenden Materie dienen, seien es nun Vitamine, Stickstoffverbindungen, Zucker oder mineralische Salze, letzten Endes als Wachstumsfaktoren gelten müßten. Der heute gebräuchliche Begriff des akzessorischen Wachstumsfaktors wurde aus der Vitaminologie übernommen, wo man von „accessory growth factors“ spricht. Will man diesen Begriff in seiner wirklichen Bedeutung beibehalten — was übrigens auch LWOFF will —, so muß man das Hauptgewicht auf die Konzentration legen, in der diese Stoffe noch wirksam sind [SCHOPFER 1935 (13)]. Auch LWOFF sieht sich zur Feststellung genötigt, daß die Wachstumsfaktoren im allgemeinen noch in sehr starken Verdünnungen wirksam sind. Wir dürfen also vorläufig für unsere Betrachtung der Wirkstoffe die SH- und NH₄-Gruppen wohl außer acht lassen.

B. Das Bedürfnis an Wachstumsfaktoren als Folge des Verlustes einer Synthesefähigkeit.

Der pflanzliche Organismus ist unter anderem durch sein Synthesevermögen charakterisiert. Aus sehr einfachen Verbindungen oder aus Elementen vermag er die sehr komplexen Bestandteile seines Körpers aufzubauen. Dieses Synthesevermögen kann jedoch teilweise oder ganz verloren gehen. Dadurch entstehen die verschiedenen Abstufungen, die schließlich zur absoluten Heterotrophie, d. h. zum Saprophytismus oder Parasitismus führen. Besonders auffällig sind die Abstufungen im Verlust der Autotrophie bei den halbparasitischen und parasitischen Scrophulariaceen und bei den Orchideen.

Bei einigen in bezug auf die Stoffwechselfysiologie besonders gut untersuchten Gruppen von Organismen, wie z. B. bei Bakterien und Flagellaten, ist der Verlust des Synthesevermögens hinsichtlich des Stickstoffwechsels sozusagen Schritt für Schritt zu verfolgen. Mit zunehmendem Grad der Heterotrophie steigen die Ansprüche für die Kultur auf künstlichen Nährböden. Besonders interessant sind in dieser Hinsicht die Flagellaten [LWOFF (1)], die den gemeinsamen Ausgangspunkt des Pflanzen- und Tierreiches darstellen.

Die Bakteriologen benützen diese Abstufungen der Heterotrophie für die physiologische Klassifikation der Bakterien.

Ohne allzu stark zu schematisieren, kann man sagen, daß der Stoffwechsel von Pflanzen, die das Synthesevermögen mehr oder weniger eingebüßt haben, sich mehr demjenigen des Tieres nähert und sich damit vom Typus der höheren Pflanze, der durch Autonomie und Unabhängigkeit charakterisiert ist, entfernt.

Die Mikroorganismen, die neben den normalen Bestandteilen der Nährlösung noch zusätzliche, in sehr schwachen Dosen wirksame

Substanzen benötigen, wurden schon von A. FISCHER (1904) in seiner Gruppe der paratropen Organismen zusammengefaßt.

Damit ist das Problem der Wachstumsfaktoren in seinen natürlichen Rahmen gestellt. Ihre Notwendigkeit kann in einem Verlust des Synthesevermögens begründet sein, in gleicher Weise wie das Bedürfnis nach Kohlehydraten. Wie diese müssen deshalb auch die Wachstumsfaktoren als unentbehrliche Bestandteile der lebenden Materie bezeichnet werden. Zu diesem Schlusse gelangten wohl zuerst TWORT und INGRAM (1913). Eine vergleichende Untersuchung von zwei sehr nahe stehenden Bakterien (Kochscher und Johnescher Bazillus) führten zum Ergebnis, daß die zwei Formen zum Aufbau ihres Plasmas dieselben Stoffe benötigen. Seit 1912 bemerkten aber TWORT und INGRAM, daß der Bazillus von JOHNE auf den gewöhnlichen Nährböden nicht gedeiht. Ein Wachstum erfolgt erst, wenn dem Nährboden säurefeste Bakterien (z. B. Kochsche Bazillen) oder einfach Glycerinauszüge solcher Bakterien beigelegt wurden. Dies kann nur dadurch erklärt werden, daß der Kochsche Bazillus einen Stoff zu synthetisieren vermag, der auch für den Bazillus von JOHNE unentbehrlich ist, der aber von diesem nicht selbst synthetisiert werden kann. Der Bazillus von JOHNE erhält also durch den Kochschen Bazillus vermutlich einen Wirkstoff, dessen Natur allerdings noch heute unbekannt ist.

Diese Auffassung wurde namentlich durch die grundlegenden Untersuchungen von P. FILDES [1924 (1, 2, 3)] an hämophilen Bakterien unterstützt. Er zeigte, daß das Bedürfnis nach den Faktoren X und V (vgl. S. 125) bei einzelnen Arten verschieden ist, und daß die Formen, die ohne Zugabe des einen Faktors gedeihen, imstande sind, diesen selbst zu synthetisieren.

Diese Betrachtungsweise liegt allen Untersuchungen zugrunde, die seither über Wachstumsfaktoren ausgeführt worden sind, und erwies sich als vollständig berechtigt. Sie bedeutet eigentlich nichts anderes als die Übertragung des Vitaminbegriffes auf die Mikrobiologie: Jede aktive Substanz, die nicht mehr synthetisiert werden kann, muß zugegeben werden [LWOFF 1933—1934 (2), SCHOPFER 1934—1935 (4, 10, 13), KNIGHT (2)]. Durch den ersten Nachweis, daß ein Vitamin im engeren Sinne als Wachstumsfaktor für Mikroorganismen wirkt [SCHOPFER 1934 (4, 7)], erhielt diese Auffassung eine weitere Stütze. LWOFF [1936 (3)] arbeitete in seinen Untersuchungen über hämophile Organismen dieses Prinzip zu einem System aus.

Die thallusbildenden Organismen sind für solche Untersuchungen besonders geeignet, da die Synthese der Wachstumsfaktoren spielend leicht von der Spore an verfolgt werden kann [SCHOPFER 1935 (12)].

Dagegen darf nicht angenommen werden, daß die Notwendigkeit eines typischen Wachstumsfaktors mit der allgemeinen Heterotrophie verbunden wäre. Es gibt heterotrophe (also chlorophyllfreie) Organismen, die ihre Wirkstoffe selber zu synthetisieren vermögen. Das Problem

der Wachstumsfaktoren ist nur als Spezialfall der allgemeinen Heterotrophie zu betrachten. Nur in extremen Fällen ist die allgemeine Heterotrophie mit Heterotrophie gegenüber Wirkstoffen verbunden.

Entgegen der Auffassung von LWOFF möchten wir aber betonen, daß dieses Kriterium des Syntheseverlustes nicht zur Charakterisierung der Wachstumsfaktoren ausreicht. Ein Syntheseverlust ist auch überall da vorhanden, wo ein Organismus auf die Zufuhr von Zucker oder organisch gebundenem Stickstoff angewiesen ist. Das Merkmal des Syntheseverlustes erhält erst Bedeutung für die Charakterisierung der Wachstumsfaktoren, wenn es mit dem ersten Kriterium — der Wirksamkeit in sehr kleinen Mengen — vereinigt werden kann. LWOFF [1938 (5)] glaubt, mit dem Merkmal des Verlustes eines Synthesevermögens auszukommen, um normale Nährstoffe und Wachstumsfaktoren auseinanderzuhalten, indem er sagt, daß die ersteren untereinander ersetzbar seien, die letzteren aber nicht. Dabei geht er sicher zu weit; denn es gibt zweifellos auch spezifische Nährstoffe, die nicht oder kaum ersetzbar sind. Dagegen kennt man typische Wachstumsfaktoren, die durch andere ersetzt werden können, wie z. B. die Biosstoffe (KÖGL und TÖNNIS) (siehe S. 107, 144).

C. Die Wachstumsfaktoren als organische Verbindungen. Die Pseudowachstumsfaktoren mineralischer Natur.

Gewisse mineralische Elemente üben eine besonders fördernde Wirkung auf die Organismen aus, die oft fälschlich als oligodynamische Wirkung bezeichnet wird. NÄGELI verstand darunter eine toxische, hemmende Wirkung. Sie sind, ohne daß man mit Sicherheit sagen könnte, daß sie am Aufbau der lebenden Materie beteiligt sind, doch für die Entwicklung unentbehrlich und können einen Wachstumsfaktoreffekt vortäuschen.

Seit RAULIN (1870) ist bekannt, daß Zink auf *Aspergillus* wachstumsfördernd wirkt. Dasselbe gilt für Mangan [nach BERTRAND und JAVILLIER (1, 2) für *Aspergillus*], Thallium [nach RICHARDS für Hefen] und Molybdän [nach STEINBERG für *Aspergillus*].

Ähnliches wurde für das Kupfer festgestellt.

Eine mineralische Substanz kann je nach der Dosierung entweder stimulierend wirken, indifferent sein oder toxisch werden. Wirkt eine erhöhte Dosis nicht toxisch, so kann man an eine eigentliche Nährstoffwirkung denken. Was uns in diesem Zusammenhange interessiert, ist die Stimulationswirkung, die vollständig den Effekt eines organischen Wachstumsfaktors vortäuschen kann. Besonders lehrreich und zur Vorsicht mahnend ist die Wirkung des Molybdäns auf *Aspergillus*. STEINBERG fand, daß das Wachstum dieses Pilzes durch gewisse unreine Saccharoseproben in günstigem Sinne beeinflusst wird. Die wirksamen Stoffe konnten durch Alkoholbehandlung aus dem Zucker extrahiert werden. Man könnte zuerst an die Wirkung organischer Stoffe denken.

Durch die Behandlung mit Alkohol verliert der Zucker seine fördernden Eigenschaften. Die mit dem gereinigten Zucker angesetzten Kulturen zeigen ein bedeutend schwächeres Wachstum, besonders auch im Vergleich mit den Myzelien, die in zinkhaltigen Nährlösungen gewachsen sind. STEINBERG untersuchte die Wirkung von 55 Elementen und fand, daß mit einer Dosis von 10γ Molybdän pro Liter Nährlösung das gleiche Wachstum erreicht wurde wie mit dem unreinen Zucker. Diesem Element kommt also wie auch dem Zink, Kupfer und Mangan eine große Bedeutung zu. Es muß angenommen werden, daß durch die Alkoholbehandlung das Molybdän aus dem unreinen Zucker entfernt wurde. Ähnliche Reinigungsmethoden werden häufig auch für die Extraktion der Wachstumsfaktoren angewendet. Es ist deshalb begreiflich, daß man zunächst auch hier an einen solchen Stoff dachte, während es sich in Wirklichkeit um eine Förderung durch ein Kation handelte.

Daneben stehen heute auch noch andere wirksame Elemente im Vordergrund. So beschleunigt nach BORTELS (1, 2) das Vanadium die Stickstoffassimilation und die Aufnahme des Asparagins bei *Azotobacter*, der übrigens auch Molybdän benötigt. [Für die Wirkung der Spurenelemente vgl. PIRSCHLE (1, 2) und NEIPP.]

Eine eingehendere Besprechung der Wirkung des Zinks zeigt, daß dieses Element im Stoffwechsel von *Aspergillus* eine bedeutende Rolle spielt. Es wurde gezeigt, daß der ökonomische Koeffizient durch die Anwesenheit von Zink bedeutend erhöht wird.

Man sieht also, daß diese mineralischen Elemente, besonders das Zink, sich in ihrer Wirkung nur wenig von den eigentlichen Wachstumsfaktoren organischer Natur unterscheiden. Es soll aber später gezeigt werden, daß doch ein deutlicher Unterschied zwischen diesen zwei Kategorien von Wirkstoffen besteht. Berücksichtigt man jedoch nur den Effekt allein, so könnte man zu Trugschlüssen gelangen.

Diese Elemente erscheinen um so interessanter, als es sehr schwierig ist, sie in den Nährlösungen vollständig auszuschalten. Sie sind in Spuren auch im reinsten destillierten Wasser vorhanden (LASSEUR und GIRARDET). Eine Behandlung des destillierten Wassers mit Tierkohle ermöglicht die Entfernung der letzten Spuren von Zink, was für die Ausführung der Kontrollversuche von Bedeutung ist. G. LOHMANN zeigte einwandfrei, daß sich die Kulturen in Nährlösungen mit unbehandeltem destilliertem Wasser deutlich besser entwickelten als nach Tierkohlebehandlung des Wassers (siehe auch JAVILLIER).

Diese Elemente können auch in den mineralischen Salzen, die zur Herstellung der Nährlösungen verwendet werden, in Spuren vorhanden sein. Besonders aber kommen sie in organischen Stoffen vor, so Thallium in Asparagin und Molybdän in Saccharose. Sie können während der Sterilisation auch aus dem Glas befreit werden (LASSEUR und GIRARDET, ONDRATSCHEK) oder bei der Impfung in den Nährboden

gelangen. Solche Fehlerquellen müssen auf alle Fälle in Betracht gezogen und nach Möglichkeit ausgeschaltet werden.

Wenn die Vermutung besteht, daß irgendein Rohprodukt oder eine gereinigte Substanz einen Wachstumsfaktor enthält, so muß unbedingt eine Veraschung ausgeführt werden. Sind die Aschenbestandteile ohne Wirkung, so bleibt das Ergebnis zweifelhaft. Ist dagegen der Einfluß der Aschensubstanzen positiv, so braucht kein eigentlicher Wachstumsfaktor angenommen zu werden, die beobachtete Förderung muß dann auf mineralische Substanzen zurückgeführt werden. Diese können auf verschiedene Weise wirken. Sie können absorbiert werden und als Katalysatoren für enzymatische Vorgänge, Synthese oder Abbau dienen. Sie wirken scheinbar in diesem Falle genau wie echte Wachstumsfaktoren organischer Natur, sie können aber auch die Permeabilität der Zelle beeinflussen oder außerhalb der Zelle wirken, indem sie eine antitoxische Wirkung in bezug auf andere Ionen ausüben.

Ohne die Bedeutung der mineralischen Substanzen zu unterschätzen, sollen sie hier doch von den echten Wachstumsfaktoren organischer Natur unterschieden und als Pseudowachstumsfaktoren bezeichnet werden (vgl. Einteilung S. 17).

D. Chemisch-physikalische Eigenschaften der Nährlösungen.

Wir müssen hier eine weitere Einschränkung anbringen: Eine Nährlösung muß nicht nur in bezug auf die Menge der vorhandenen Nährstoffe den Bedürfnissen des zu züchtenden Lebewesens entsprechen, sondern es müssen auch dessen Anforderungen an die physikalisch-chemischen Eigenschaften der Nährlösung berücksichtigt werden. Wir denken dabei besonders an die Wasserstoffionenkonzentration (p_H), an das Oxydoreduktionspotential (r_H), an die Viskosität und an die Oberflächenspannung.

KNIGHT und FILDES (1) zeigten, daß die Sporenkeimung von *Bacillus tetani* durch ein ungünstiges Redoxpotential vollständig gehemmt werden kann. Man wäre oft geneigt, in solchen Fällen das Mißlingen der Kultur auf das Fehlen eines Wachstumsfaktors zurückzuführen. In Wirklichkeit kann dies durch eine einfache physikalisch-chemische Eigenschaft der Nährlösung bedingt sein (Literatur bei HEWITT 1937).

Echte Wirkstoffe, wie z. B. Ascorbinsäure u. a., können selbstverständlich auch auf die Einstellung des erforderlichen Redoxpotentials der Nährlösung wirken. Dieser indirekte Effekt, der auch durch andere Substanzen ausgelöst werden kann, wird hier nicht besprochen.

Besonders interessant sind die Einwirkungen von Viskosität und Oberflächenspannung der Nährlösung. In einer Untersuchung über *Azotobacter* fanden A. RIPPEL und B. LEHMANN, daß der Zusatz einer

kleinen Menge von Agar (0,1%) zur Nährlösung sowohl die Stickstoffbindung als auch das Erntegewicht deutlich erhöht.

Dieses Agar wirkt auf *Azotobacter* weder durch die in ihm enthaltenen mineralischen Stoffe noch durch Adsorption irgendwelcher toxischer Substanzen in der Nährlösung, sondern durch seine kolloidalen Eigenschaften. Ohne Agarzusatz ist das Bakterium gleichmäßig in der Nährlösung verteilt, mit Agar dagegen wächst es an der Oberfläche. Der kolloidale Zustand bedingt damit eine bessere Sauerstoffversorgung, die wohl als Ursache der Förderung zu betrachten ist.

Es bestehen nach RIPPEL auch Beziehungen zwischen Agarzusatz und der Wirkung des Eisens. Wie aus den folgenden Zahlen hervorgeht, begünstigt ein Zusatz von Agar die Wirkung dieses Elementes deutlich:

mit 2,5 mg FeSO_4 nach 5 Tagen:	5,33 mg gebundener Stickstoff,
„ 2,5 „ FeSO_4 + 0,01 % Agar nach 5 Tagen:	14,85 mg gebundener Stickstoff.

In diesem Falle würden also die kolloidalen Eigenschaften des Agars die Hauptrolle spielen (s. Abb. 3).

Auch mit *Aspergillus niger* erhielt RIPPEL in dieser Richtung interessante Ergebnisse. Mit Bierwürze ohne Agar entwickelte sich dieser Pilz am Rande der Flüssigkeit, in Kontakt mit dem Glase. Bei Zugabe von 0,1% Agar dagegen bildete er in der gleichen Nährlösung eine homogene Decke. Auch diese Beobachtung spricht deutlich dafür, daß die Oberflächenspannung hier in erster Linie von Bedeutung ist.

A. RIPPEL untersuchte das Agar auch vom chemischen Gesichtspunkte aus eingehend. Es konnte eine spezifische Wirkung irgendeiner Verunreinigung erwartet werden.

Extraktionen mit Äther, Alkohol und Wasser ergaben aber negative Resultate. Die Wirksamkeit des Agars kann also nicht auf irgendeinen chemischen Stoff zurückgeführt werden. Man kann deshalb RIPPEL wohl beipflichten, wenn er die wachstumsfördernde Wirkung hier auf die physikalisch-chemischen Veränderungen zurückführt.

Es darf nicht unerwähnt bleiben, daß das Autoklavieren der Nährlösungen unter bestimmten Bedingungen sowohl zu einer „Wuchsstoffbildung“ [NIELSEN und HARTELIUS (3), FULMER, WILLIAMS und WERKMAN (1934), FULMER und HUESSELMANN (1927), KOSER, FINKLE, DORFMAN und SAUNDERS (1938)] als auch zur Zerstörung von Wirkstoffen oder zur Bildung von hemmenden Substanzen führen kann (MIRIMANOFF).

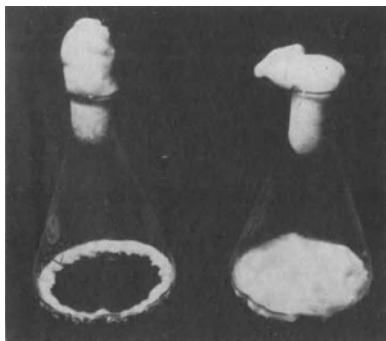


Abb. 3. Wachstum von *Aspergillus* auf Bierwürze; links ohne, rechts mit 0,1% Agar. (Nach RIPPEL und LEHMANN.)

Wir müssen nach diesen Beobachtungen noch einmal darauf hinweisen, daß bei der Postulierung eines Wachstumsfaktors alle Vorsichtsmaßnahmen geboten sind. Bevor man mit Sicherheit eine derartige Wirkung annehmen darf, sind die verschiedensten anderen Möglichkeiten zu eliminieren.

Wir können zum Abschluß dieser Ausführungen feststellen, daß für den Nachweis eines noch unbekanntes Wachstumsfaktors folgende Kriterien notwendig sind:

1. Es muß vorerst sichergestellt werden, daß die verwendete Nährlösung für einen bestimmten Organismus wirklich optimal ist. Physikalisch-chemische Eigenschaften, die eine Hemmung der Kultur bedingen könnten, müssen eliminiert werden.

2. Nachweis durch Verdünnung. Die Wirkung muß bei hochkonzentrierten und gereinigten Substanzen auch noch in sehr starken Verdünnungen vorhanden sein.

3. Nachweis des Verlustes des Synthesevermögens. Es muß versucht werden, ob ein Organismus, für den man die Notwendigkeit eines Wuchsstoffes vermutet, mit Extrakten nahe verwandter Arten kultiviert werden kann.

4. Durch Zugabe der Aschensubstanzen zur Kulturlösung darf kein Wachstum ausgelöst werden.

Alle Fehlerquellen, die die Resultate beeinflussen können, müssen berücksichtigt werden. So enthalten z. B. die Gelatine [KOSER und SAUNDERS (5)], das Agar und die Spitalwatte (SCHOPFER und RYTZ) wie auch Peptone [ORLA-JENSEN und Mitarbeiter (3)] Wachstumsfaktoren.

Auf diesen Grundlagen fußend, kommen wir zu folgender Definition eines Wachstumsfaktors:

Ein Wachstumsfaktor ist eine organische Substanz, die in sehr geringen Mengen wirksam ist, und deren Notwendigkeit für einen Organismus durch einen Verlust des Synthesevermögens bedingt ist.

Die Annahme eines Wachstumsfaktors rechtfertigt sich, auch wenn es nur eine einzige Bedingung gibt, bei der ein Organismus ohne Wachstumsfaktor nicht zur Entwicklung gebracht werden kann [SCHOPFER (13)] (s. S. 143).

Der Verlust des Synthesevermögens kann vollständig oder nur teilweise sein. Deshalb braucht ein Wachstumsfaktor oft nur für ein bestimmtes Entwicklungsstadium unentbehrlich zu sein. Er hat trotzdem als Wachstumsfaktor zu gelten, wenn gezeigt werden kann, daß seine Notwendigkeit auf einen vollständigen, teilweisen oder zeitweisen Verlust des Synthesevermögens zurückzuführen ist.

Diese Definition hat allgemeine Gültigkeit. Die besonderen Eigenschaften der Wachstumsfaktoren sollen in den weiteren Ausführungen besprochen werden (s. S. 143).

Es besteht gegenwärtig eine gewisse Unsicherheit in der Anwendung der Bezeichnungen Wuchsstoff, Wachstumsfaktor usw.

Ebenso können die Begriffe Vitamine und Hormone nicht mehr in ihrer ursprünglichen Bedeutung, die sich auf die exogene Wirkung der Hormone stützt, aufrecht erhalten werden.

Übereinstimmend mit der schon gegebenen Einteilung haben wir folgende Gruppierung vorgeschlagen [SCHOPFER (21)]:

Wirkstoffe	{	<i>Pseudowachstumsfaktoren</i> : mineralischer Natur.
		<i>Wachstumsfaktoren</i> : vitaminischer Natur, greifen in den Stoffwechsel ein, wirken u. a. auf die Assimilierbarkeit der Nährstoffe und den Plasmawuchs.
		<i>Wuchsstoffe</i> : hormonartiger Natur, beeinflussen in letzter Instanz auf spezifische Weise die Formbildung.

Man kann ferner eine Gruppe von spezifischen Nährstoffen aufstellen (vgl. *Chronica botanica* 1938, p. 48—49, First phytohormonekonferenz, Paris). Dahin gehören Substanzen, die in höheren Dosen wirken als die eigentlichen Wachstumsfaktoren.

Die Wachstumsfaktoren mit vitaminischer Wirkung entsprechen der Biosgruppe sowie der Gruppe B von NIELSEN und HARTELIUS (2) (wasserlösliche Stoffe). Die Wachstumsfaktoren mit hormonaler Wirkung umfassen die Gruppe der Auxine sowie die Gruppe A derselben Autoren (ätherlösliche Stoffe).

Der Begriff Phytohormon wird hier vermieden.

In dieser Arbeit werden wir uns nur mit den Wachstumsfaktoren vitaminischer Natur befassen.

III. Wirkung verschiedener aktiver Substanzen auf *Aspergillus niger*.

A. Die B-Substanzen (B₁ und B₂) von NIELSEN.

Aspergillus niger gehört sicher zu den anspruchslosesten Organismen; er gedeiht in Nährlösungen von sehr einfacher Zusammensetzung. Es ist merkwürdig, daß dieser Pilz, der ein geeignetes Objekt für den Nachweis der Wirkung von Pseudowachstumsfaktoren darstellt, mehrfach für die Untersuchung von Wachstumsfaktoren organischer Natur verwendet wurde. Wir werden allerdings sehen, daß es sich dabei um Substanzen handelt, die man nicht als echte Wachstumsfaktoren in unserem Sinne auffassen darf. Da diese Untersuchungen in der Erforschung der Wirkstoffe eine wichtige Rolle gespielt haben, müssen sie hier kurz besprochen werden.

Schon RAULIN, der die Zusammensetzung einer für *Aspergillus* geeigneten synthetischen Nährlösung ermittelte, beobachtete eine stark fördernde Wirkung des Hefewassers auf das Myzelwachstum. NIKITINSKY bestätigte, daß

die Entwicklung von *Aspergillus* durch eine Substanz begünstigt wird, die aus dem Myzel in die Nährlösung hinaus diffundiert. Es scheint sich dabei nicht um einen eigentlichen Nährstoff zu handeln.

LUMIÈRE (1 und 2) griff diese Frage wieder auf zu einem Zeitpunkt, als sie erneut aktuell zu werden begann. Da die Hefeextrakte ihre fördernde Wirkung durch Erhitzen auf 130° nicht verlieren, und da ferner auch die Aschenbestandteile der Hefe aktiv sind, bestritt LUMIÈRE, daß es sich um den Einfluß von Wachstumsfaktoren vitaminischer Natur handle. Tatsächlich wurde seither durch zahlreiche Arbeiten festgestellt, daß mineralische Elemente für diesen Pilz von größter Bedeutung sind (BERTRAND, JAVILLIER, STEINBERG u. a., vgl. S. 12).

Eingehende Untersuchungen über diese Frage verdanken wir besonders NIELSEN und seiner Schule. Er zeigte 1930 (1), daß Nährlösungen

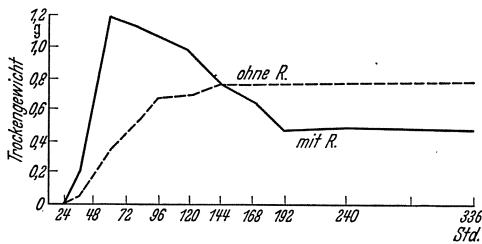


Abb. 4. Wachstum von *Aspergillus* mit und ohne Rhizopin.
[Nach NIELSEN (2).]

mit Malzextrakt, in denen *Rhizopus suinus* und *Absidia ramosa* gewachsen waren, eine unbekannt Substanz enthielten, die er Rhizopin nannte. Dieser Stoff bewirkt eine Verlängerung der Haferkoleoptile. Seither wurde festgestellt (THIEMANN 1935), daß es sich um Hetero-

auxin (β -Indolylessigsäure), also um eine Substanz mit hormonaler Wirkung handelt, die auch in der Hefe vorkommt (KÖGL und KOSTERMANS 1934).

Für uns ist es besonders interessant, daß dieses Rhizopin, das in der Kulturlösung von *Rhizopus* enthalten ist, auch das Myzelwachstum von *Aspergillus niger* fördert; allerdings sind dazu große Mengen notwendig [NIELSEN (2)] (s. Abb. 4).

Man muß annehmen, daß durch den Stoffwechsel von *Rhizopus* mindestens zwei Gruppen von aktiven Substanzen gebildet werden: die ätherlöslichen A-Substanzen, die auf die *Avena*-Koleoptile wirken und die ätherunlöslichen, wasserlöslichen B-Substanzen, die fördernd auf die Trockensubstanz von *Aspergillus* wirken [NIELSEN und HARTELIUS (2)]. Die Bedingungen für die Wirkung der letzteren wurden näher untersucht. Die Förderung ist bei p_H 6 am deutlichsten [NIELSEN und HARTELIUS (4)].

Der Faktor B entsteht nicht nur auf biologischem Wege in natürlichen Nährlösungen mit Ammoniumtartrat, sondern er kann auch auf chemischem Wege gebildet werden [NIELSEN und HARTELIUS (3)]. Erhitzt man eine Lösung, die verschiedene organische Säuren (oder ihre ammoniakalischen Salze) und Filtrierpapier enthält, auf 135°, so erhält man eine Flüssigkeit, die fördernd auf *Aspergillus niger* wirkt. Es zeigt sich, daß das Filtrierpapier dabei nicht auf physikalisch-chemischem Wege, sondern rein chemisch, durch seine Aschenbestandteile wirkt. In Wirklichkeit wird durch dieses nicht während des Erhitzens die Bildung von Wachstums-

faktoren katalysiert, sondern es wirkt nachträglich als Cofaktor der Wachstumssubstanz, die auf chemischem Wege gebildet wird. Auch die Wirkung des auf biologischem Wege gebildeten Rhizopins wird durch Filtrierpapier erhöht.

In beiden Fällen ergänzen die mit HCl aufgenommenen und der Nährlösung beigefügten Aschenbestandteile des Filtrierpapiers die Wirkung des Hauptfaktors. Der auf chemischem Wege entstandene Faktor zeigt die gleichen Eigenschaften wie der durch *Rhizopus suinus* gebildete. Sicher wirkt das Filtrierpapier durch die mineralischen Elemente, die es enthält. Bekannt ist, daß Zink für *Aspergillus* die Bedeutung eines Cofaktors hat, doch entspricht seine Wirkung nicht derjenigen der Aschenbestandteile des Filtrierpapiers. Diese lassen sich durch ein Gemisch verschiedener Chloride in bestimmten Mengen (Ba, Be, Hg, Cr, Ca, Zn, Cd, Cu, Mn, Co, Li) quantitativ ersetzen [NIELSEN und HARTELIUS (5)]. Damit führt uns *Aspergillus* wieder in das Gebiet der Pseudowachstumsfaktoren.

Nun hat merkwürdigerweise HARTELIUS (2) im Urin einen Faktor nachgewiesen, der nach seinen Eigenschaften ganz dem biologischen Rhizopin entspricht. Die Tatsachen, daß die Aschenbestandteile des Urins aktiv sind und daß die Wirkung des normalen Urins durch Zusatz von Filtrierpapierasche oder Zink erhöht werden kann, sprechen für die Identität des Urinfaktors mit dem Rhizopin. Dieser Faktor ist in verschiedenen tierischen und pflanzlichen Stoffen verbreitet [HARTELIUS (1), HARTELIUS und Sv. HJORTH-HANSEN, NIELSEN (3)].

In seinen Untersuchungen über Wirkstoffe im Blutungssaft (1) sowie in Maiskeimlingen (2) und in Knospen und Blättern (3) stellt DAGYS einen Faktor fest, der auf *Aspergillus* und auf Hefe wirkt, sowie einen zweiten, der nur auf *Aspergillus* aktiv ist.

NIELSEN und HARTELIUS (9) bestreiten die Existenz des ersten Faktors; ebenso wurden von SCHOPFER und MOSER und SCHOPFER (16) die von DAGYS aufgestellten Beziehungen dieses Faktors zu anderen Wachstumsfaktoren abgelehnt.

Der zweite Faktor von DAGYS dagegen, der nur für *Aspergillus* aktiv ist, dürfte sich nach seinen Eigenschaften den B-Substanzen von NIELSEN nähern. Die Produkte aus der Veraschung des Birkensaftes enthalten ebenfalls reichlich Cofaktoren des Wachstums.

Die auf Hefe und *Aspergillus* wirkenden Substanzen der B-Gruppe stellen ein komplexes Gemisch dar. Die Trennung der einzelnen Bestandteile wurde von NIELSEN und HARTELIUS (9) auf dem Wege der spezifischen aktiven Adsorption durchgeführt: Werden junge Thalli von *Aspergillus* in einer Lösung, die das Gemisch der B-Substanzen enthält, längere Zeit ausgeschüttelt, so wird diese für den Schimmelpilz inaktiv, behält aber ihre Wirkung auf die Hefe. Umgekehrt können bei Verwendung von Hefe, die auf diese Organismen wirkenden Faktoren adsorbiert und damit von den *Aspergillus*-Faktoren getrennt werden.

NIELSEN und HARTELIUS (9) stellten innerhalb der B-Gruppe zwei Kategorien wirksamer Substanzen auf:

Wachstumsfaktoren B₁: Durch Oxydation leicht zerstört, an Tierkohle adsorbierbar, aktiv für Hefe.

Wachstumsfaktoren B₂: Sehr widerstandsfähig gegen Oxydation, nicht an Tierkohle adsorbierbar, wirken nur in Gegenwart eines Cofaktors, aktiv für *Aspergillus*.

Die Bezeichnungen B₁ und B₂ sind sehr ungünstig gewählt, da sie für chemisch isolierte Vitamine verwendet werden.

Die A-Substanzen entsprechen Wirkstoffen hormonaler Natur. Dagegen könnten die Faktoren der B-Gruppe nach unserer Einteilung zu den Wirkstoffen vitaminischer Natur gehören. Da sie aber nur in relativ hohen Konzentrationen wirken, dürfen sie nicht mehr als echte Wachstumsfaktoren bezeichnet werden. Die B₂-Substanzen dürften den Biosstoffen entsprechen. Die Terminologie von NIELSEN kann auf breiterer Basis nicht aufrecht erhalten werden. [Zusammenfassung bei NIELSEN (6).]

B. Chemische Natur der B₂-Substanzen.

NIELSEN und HARTELIUS (6) fanden, daß ein Gemisch von organischen Säuren den Faktor B ersetzen kann. Durch Zugabe folgender Stoffe auf 50 ccm Nährlösung wird das Erntegewicht bedeutend erhöht:

1 mg Brenztraubensäure	+ 0,3 mg Glykolsäure . . .	451 mg
1 mg „	+ 0,3 mg „ . . .	
	+ 10 mg Glyoxalsäure . . .	551 mg
10 mg Glyoxalsäure		503 mg
Ohne Zusatz		252 mg

Glyoxalsäure allein bedingt also schon eine bedeutende Förderung. Es scheint nicht ausgeschlossen, daß diese organischen Säuren in Kulturen von *Rhizopus* gebildet werden. Für *Rhizopus nigricans* ist bekannt, daß er unter bestimmten Kulturbedingungen Fumarsäure, Äpfelsäure und Oxalsäure produziert.

C. Bildung der B₂-Substanzen durch *Aspergillus* und andere Pilze.

Aus älteren Untersuchungen von LIROSSIER (1919—1920) ergab sich, daß mit Zusatz von Kulturlösungen von *Aspergillus* die Entwicklung anderer Arten in Reinkultur gefördert werden konnte. Die Wirkung gebrauchter Nährlösungen wurde seither mehrfach untersucht. In verschiedenen Fällen konnte die Förderung auf Wachstumsfaktoren zurückgeführt werden. Auch andere Pilze bilden in der Kulturlösung B-Wuchsstoffe, aber nie in solchen Mengen wie *Rhizopus sinuatus* (RONSDORF).

Die auf *Aspergillus* wirksamen B₂-Substanzen werden durch diesen Pilz selbst gebildet (BÜNNING). Diese Faktoren sind in verschiedener Beziehung den Substanzen von NIELSEN ähnlich und bedingen zuerst eine starke Beschleunigung der Entwicklung, nach der dann eine rasche Degeneration erfolgt. SCHOPFER und MOSER wiesen Substanzen nach,

die auf verschiedene *Rhizopus*-Arten wirksam sind. Sie dürften wohl den B₂-Substanzen von NIELSEN entsprechen (vgl. Faktor MR, S. 41, 82).

Nach NIELSEN und FANG-SING reagieren *Penicillium Roqueforti* und *Rhizopus suinus* anders auf die B₂-Substanzen als *Aspergillus*. WORLEY und DUGGAR verwenden *Colletotrichum circinans* als Test für die Wachstumsfaktoren, die durch *Rhizopus suinus* gebildet werden.

D. Bildung der A-Substanzen durch *Aspergillus* und andere Mikroorganismen.

BOYSEN-JENSEN (1 und 2) zeigte, daß sowohl *Aspergillus* als auch Hefen und Bakterien A-Substanzen bilden, die auf die *Avena*-Koleoptile wirksam sind. Welche Bedeutung diese Stoffe für die Mikroorganismen haben, ist noch nicht bekannt; doch scheinen neuere Arbeiten zu zeigen, daß Wirkstoffe hormonaler Natur aus der Gruppe des Auxins und des Heterauxins unter gewissen Bedingungen für das Wachstum von Ascomyceten, z. B. *Pyronema confluens* (KERL), eine positive Wirkung haben können. RONSDORF konnte in der Kulturlösung von *Glomerella cingulata* eine große Menge von Wuchsstoff A nachweisen.

E. Wirkungsweise der B₂-Substanzen.

Hier ist man nur auf Vermutungen angewiesen. Die B₂-Substanzen wirken nicht spezifisch auf die Atmung. Die Zunahme der CO₂-Bildung geht parallel mit der Erhöhung des Myzelgewichtes. Das Verhältnis von CO₂ zum Trockengewicht ist mit und ohne Zusatz von B₂-Substanzen fast gleich.

Eine indirekte Wirkung könnte nach BÜNNING darin bestehen, daß sie die Sauerstoffübertragung und damit die Assimilation der Nitrate fördern. Diese Annahme wurde durch verschiedene Beobachtungen gestützt, die die Beziehungen zwischen Atmung und Absorption der Anionen feststellten.

F. Wirkung der Vitamine B₁ und B₂ auf *Aspergillus*.

Das Vitamin B₁ scheint in Dosen von 0,01—0,5 mg pro 20 oder 30 ccm Nährlösung keinen deutlichen Einfluß auf *Aspergillus* auszuüben (BÜNNING). Für *Aspergillus niger* und *Aspergillus flavus* ist bekannt, daß sie imstande sind, die Aneurinsynthese auszuführen [FAWN und JUNG, SCHOPFER und JUNG (1), SCHEUNERT und SCHIEBLICH (1)] (s. Abb. 5, S. 22).

Dagegen ist Lactoflavin wirksam (BÜNNING). Mit weniger als 0,1 mg auf 30 ccm Nährlösung kann das Trockengewicht des Myzels um 30—40% erhöht werden. Bei *Aspergillus niger* v. TGH. bildet sich das Lactoflavin bei Magnesiummangel in der Nährlösung [LAVOLLAY et LABORAY (1, 2)]. Die Wirkung des Vitamins als exogener Wachstumsfaktor dürfte hier wohl durch die Beschaffenheit des Milieus bedingt werden! (Siehe S. 98.)

Das Lactoflavin, als Wirkungsgruppe des gelben Ferments, spielt für die Oxydationsvorgänge eine wichtige Rolle. Aus der Tatsache, daß es auf *Aspergillus* wirksam ist, scheint hervorzugehen, daß auch die B₂-Substanzen von NIELSEN möglicherweise in die Oxydationsvorgänge eingreifen könnten. Immerhin ist es sehr unwahrscheinlich, daß das Lactoflavin den wirksamen Faktor des Rhizopins (aus den Kulturlösungen von *Rhizopus*) darstellt.

Obschon die Untersuchungen an *Aspergillus* die Erforschung der Wachstumsfaktoren in mancher Hinsicht gefördert haben, nehmen die Ergebnisse doch eine besondere Stellung auf diesem Gebiete ein. Für die Annahme echter Wachstumsfaktoren erscheinen die notwendigen Konzentrationen zu hoch. Der Einfluß mineralischer Elemente wie auch die Möglichkeit einer physikalisch-chemischen Einwirkung der

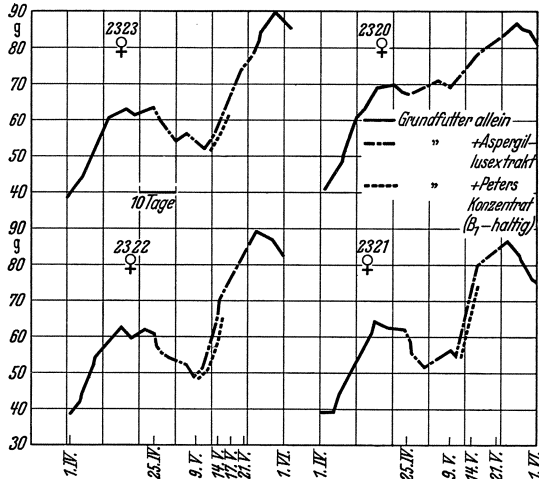


Abb. 5. Aneurinegehalt des Myzels von *Aspergillus niger* (Rattentest). ——— Grundfutter allein, - - - - Grundfutter + *Aspergillus*-Extrakt, - · - · Grundfutter + PETERS' Konzentrat (B_1 -haltig). [Nach SCHOPFER und JUNG (1).]

Nährlösung lassen *Aspergillus* für unsere Zwecke als wenig geeignetes Objekt erscheinen.

IV. Das Vitamin B_1 (Aneurin, Thiamin) als Wachstumsfaktor.

Das Aneurin ist heute der Wachstumsfaktor, dessen Wirkung auf die Mikroorganismen am bekanntesten und der auch am weitesten verbreitet ist. Beim Tier (Ratte, Taube) tritt bei Mangel dieses Vitamins Beriberi, Polyneuritis auf [EIJKMAN (1, 2)].

Das Vitamin B_1 ist im Pflanzenreich weit verbreitet; besonders reich an diesem Stoff sind Reiskleie, Weizenkeime und die Hefe.

SUZUKI, SHINAMURA und ODAKE erhielten 1913 das Oryzanin, eine Substanz, die 600mal wirksamer war als die Reiskleie, die als Ausgangsmaterial diente. Zahlreiche Forscher arbeiteten in der Folge an der Isolierung dieses Vitamins.

JANSEN und DONATH (1) gelangten 1926 zu einem kristallisierten, hoch aktiven Produkt, für das sie eine Pauschalformel ermittelten,

ohne indessen den Gehalt an Schwefel zu erkennen. Es war WINDAUS und seinen Mitarbeitern vorbehalten, die genaue Zusammensetzung ($C_{12}H_{10}N_4OS$) festzustellen. (Für die Chemie des Aneurins s. GREWE).

Durch die Synthesen von R. R. WILLIAMS und seinen Mitarbeitern, ANDERSAG und WESTPHAL sowie TODD und BERGEL kennen wir heute auch die Struktur dieses Vitamins (s. S. 75).

Von den allgemeinen Eigenschaften des Aneurins, die für den Physiologen von Bedeutung sind, seien erwähnt: Löslich in Wasser und Alkohol, unlöslich in Äther und Chloroform, relativ hitzebeständig in neutraler oder saurer Lösung (Zerstörung bei 120°); rasch inaktiviert durch Alkalien, schon bei tiefen Temperaturen; widerstandsfähig gegen Oxydation durch Wasserstoffsperoxyd und Kaliumpermanganat, leicht dialysierbar, adsorbierbar an Tierkohle, Fullererde bei bestimmtem p_H , an Kaolin und Zeolith. Diese Eigenschaften wurden mit Hilfe des Tier-testes an Ratten oder Tauben ermittelt. Für Tauben wurde eine Tagesdosis von 1,5—3,5 γ Aneurin festgestellt, also viel mehr, als die für uns in Betracht kommenden Mikroorganismen benötigen.

Mikroorganismen, die Aneurin allein benötigen.

A. Azelluläre Organismen mit coenocytischer Struktur.

1. *Phycomyces* und andere Zygomyceten.

Schon lange hatte man angenommen, daß das Vitamin B_1 für Mikroorganismen nützlich oder sogar unentbehrlich sei. LEPESCHKIN und R. J. WILLIAMS (1) vermuteten es für die Hefe. Heute weiß man, daß gewisse Hefen in Gegenwart anderer Wachstumsfaktoren tatsächlich auf reines Aneurin reagieren. READER (3) nahm an, daß die Entwicklung von *Streptothrix* (*Actinomyces*) *corallinus* durch Aneurin gefördert wird. Sie benützte ein Torulinpräparat von PETERS.

a) Allgemeines. Die unreine Maltose als Wirkstoffquelle.

Die Untersuchungen an *Phycomyces* haben nun endgültig die Bedeutung des Aneurins für die niederen Organismen aufgedeckt. Der Ausgangspunkt dieser Arbeiten war folgende Beobachtung [SCHOPFER (1)]: Schimmelpilze aus der Familie der Mucorineen, *Phycomyces blakesleeana* und *P. nitens* entwickeln sich auf natürlichen Malznährböden, Hefeextrakten, Brot, Mehl usw. sehr gut. Sie bilden hier leicht Zygoten. In synthetischen Nährlösungen¹ dagegen ist die Entwicklung sehr schwach, und die sexuellen Erscheinungen treten nicht zutage (s. Abb. 8, S. 25). Nährlösungen verschiedenster Art erwiesen sich als unwirksam, mit Ausnahme einer einzigen, die Maltose KAHLBAUM als Kohlenstoffquelle enthielt. Die

¹ Synthetische Nährlösung: Glukose puriss. 30 g, Asparagin 1 g, $MgSO_4 \cdot 7 H_2O$ 0,5 g, KH_2PO_4 1,5 g, in 1000 ccm aq. dest., p_H 4—4,5.

besonderen Eigenschaften dieser Maltose waren schon KLUYVER (1,2) und KITA aufgefallen. Er führte ihre Wirkung auf Spuren von Verunreinigungen zurück. Andere, weitgehend gereinigte Maltosefabrikate erwiesen sich

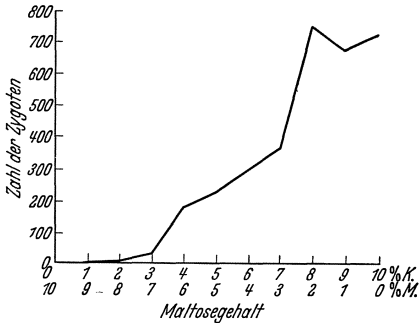


Abb. 6. Einfluß der Maltose Kahlbaum auf die Zygotenbildung bei *Phycomyces*. K Maltose Kahlbaum, „aktiv“, M Maltose Merck puriss., „inaktiv“. [Nach SCHOPFER (1).]

als unwirksam. Es wurde gezeigt, daß die Maltose KAHLBAUM eine Verunreinigung enthält und daß die fördernde Wirkung nicht für die Maltose selbst spezifisch ist (s. Abb. 6). Nach verschiedenen Umkristallisationen in absolutem Alkohol erhielt man aus dieser Maltose ein Präparat, das genau so inaktiv war wie alle anderen verwendeten Kohlehydrate. Die aktive Substanz ist im alkoholischen Auszug enthalten. Sie wirkt schon in sehr kleinen Mengen, ist in Wasser und in Alkohol löslich, relativ hitzebeständig und sehr resistent gegenüber Einwirkung von

Alkalien (bei 120°). Sie ist ferner an Tierkohle adsorbierbar, ultrafiltrierbar, widerstandsfähig gegenüber Oxydation und ultraviolettem

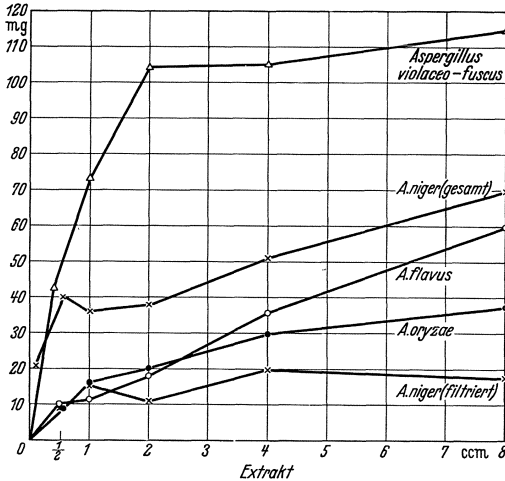


Abb. 7. Wirkung von Myzelextrakten verschiedener *Aspergillus*-Arten auf *Phycomyces* (25 ccm Nährlösung). [Nach SCHOPFER und JUNG (1).]

Licht. Es wurde angenommen, daß diese Substanz zur Gruppe des Vitamins D von FUNK gehöre (Hefevitamin, Vitamin der Mikroorganismen). Sie stammt sehr wahrscheinlich von der Hefe, die für die enzymatische Hydrolyse der Kartoffelstärke verwendet wurde.

Man findet diese Substanz in großer Menge in frischer und getrockneter Hefe, an Blütenorganen, besonders in Staubblättern und in den Pollinien der Orchideen [SCHOPFER (4)]. Seit 1936 wurde gezeigt, daß sie im ganzen Pflanzenreich verbreitet ist [SCHOPFER (14)]. Blätter von 134

Pflanzenarten, die der Nährlösung beigelegt und mit ihr sterilisiert wurden, bewirkten eine Aktivierung derselben. Organe von *Phanerogamen* (Stengel, Blätter, Blütenteile, Holz, Wurzeln) wie auch von Gefäßkryptogamen und Extrakte von *Aspergillus* [SCHOPFER und JUNG (1)] wirkten in gleicher Weise (s. Abb. 7). Das Vorkommen dieser Substanz ist nicht mit der

allgemeinen Autotrophie verbunden; chlorophyllfreie Gewebe von *Cuscuta* und *Orobanchae* sind ebenso wirksam als Teile ihrer Wirtspflanzen. Die Substanz

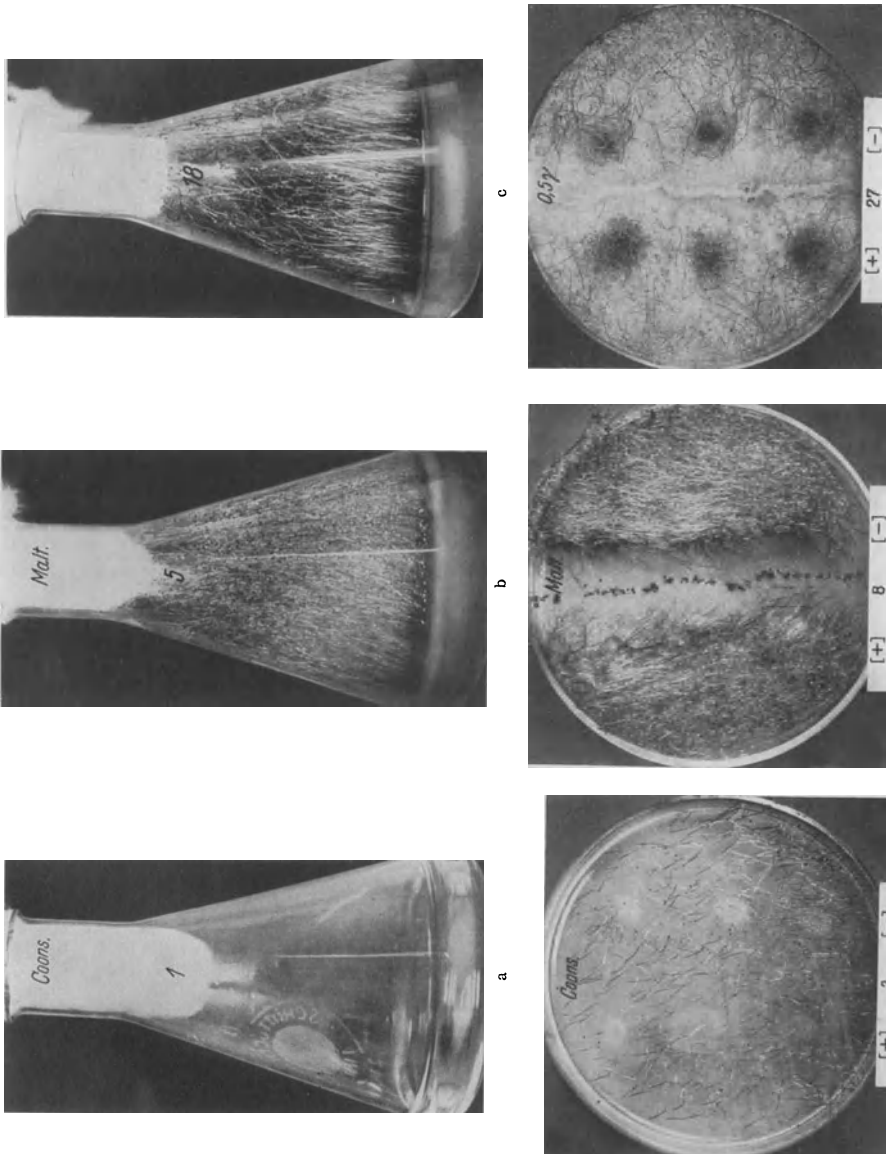


Abb. 8 a—f. Entwicklung von *Phycomyces*. Oben Myzelwachstum, unten Zygotenbildung. 1 und 3 in synthetischer Nährlösung, 5 und 8 in natürlicher Nährlösung (Malz), 18 und 27 in synthetischer Nährlösung + Aneurin in supraoptimaler Dosis. [Nach Schopfer (9).]

wurde auch in tierischen Geweben, z. B. in der Leber, und besonders in Körperflüssigkeiten, wie Milch und Harn nachgewiesen [SCHOPFER (17)].

Es handelt sich also um einen Stoff von sehr weiter Verbreitung, der besonders auch im Weizenkeim [SCHOPFER (2, 5)] reichlich vorkommt. Aus diesem Material kann der Wachstumsfaktor auch angereichert werden. Diese Beobachtungen wurden von WASSINK bestätigt; er führt aber die fördernde Wirkung auf einen Biosstoff zurück, was nicht bewiesen werden konnte (KÖGL und FRIES). Für die Anreicherung wurde die von WASSINK und SCHOPFER modifizierte Methode von NARANAYAN und DRUMMOND benützt, die ursprünglich für die Anreicherung von Bios verwendet wurde [SCHOPFER (5)]. Durch Fällung mit Bleiazetat wird das Vitamin B₂ eliminiert. Der Niederschlag ist reich an Bios, enthält aber auch das Vitamin B₁, das durch Bleiazetat nicht ausgefällt wird [nach SCHOPFER und JUNG (4) 6 Einheiten von B₁ pro Gramm, d. h. etwa 15 γ]. Biotin wirkt nicht (KÖGL und FRIES).

Alle diese Eigenschaften wiesen auf die Zugehörigkeit dieses Stoffes zur Gruppe der B-Vitamine, von welchen damals (1930) noch kein einziges mit Sicherheit isoliert worden war. Nur die Hitzebeständigkeit und die Resistenz gegen Alkalien bei 120° machten vorerst die Identifikation dieser Substanz mit dem Vitamin B₁ etwas zweifelhaft (s. Zersetzung des Aneurins durch Hitze, S. 83).

Die Versuche mit reinem kristallisiertem Vitamin B₁ (5 Proben von natürlichem und 2 Proben von synthetischem) zeigten, daß dieser Wachstumsfaktor die Wirkung der Maltose und der gebrauchten Konzentrate ersetzen kann [SCHOPFER (7), BURGEFF (2)]. Dieses Vitamin ist als unentbehrlicher Wachstumsfaktor für *Phycomyces* zu betrachten (s. Abb. 8, S. 25). Die Wirkung kann unmöglich auf eine Verunreinigung zurückgeführt werden. Es besteht kein Unterschied zwischen der Wirkung von synthetischem und natürlichem Aneurin.

b) Feststellung des Optimums; quantitative Wirkung des Aneurins.

Die bekannte Kurve, die sich in zahlreichen Versuchen immer wieder ergab, zeigt, daß für 25 ccm Nährlösung eine optimale Dosis von etwa 0,5 γ B₁ beifügt werden muß. Bis zu dieser Menge ist unter gleichbleibenden Bedingungen das erzielte Trockengewicht des Pilzes direkt proportional der beifügten Menge des Aneurins [SCHOPFER (13)] (Abb. 2, S. 5).

Oberhalb dieses Optimums bleibt auch eine sehr starke weitere Zugabe von Vitamin ohne Wirkung, man kann im Gegenteil sogar eine leichte Verminderung des Trockengewichtes feststellen.

c) Entwicklung und Aneurinwirkung als Funktion der Konzentration.

Aus 77 Bestimmungen, die zu verschiedener Zeit ausgeführt wurden, ergaben sich folgende Mittelwerte der Myzelgewichte (Trockengewicht):

Tabelle 1.

γ Aneurin per 25 ccm								
0	0,01	0,02	0,06	0,1	0,2	0,4	0,8	1,6
2—5	8,5	13,1	25,9	36,7	56,7	75,9	84,4	83,4 mg

Die maximale Entwicklung erfolgt also unter diesen Bedingungen bei 0,5—0,6 γ B₁ (s. Abb. 9). Es ergibt sich also eine streng quantitative Wirkung.

Phycomyces bildet in flüssigen Nährlösungen zunächst ein untergetauchtes Myzel, das aus den verflochtenen Keimschläuchen besteht; dann entsteht bei

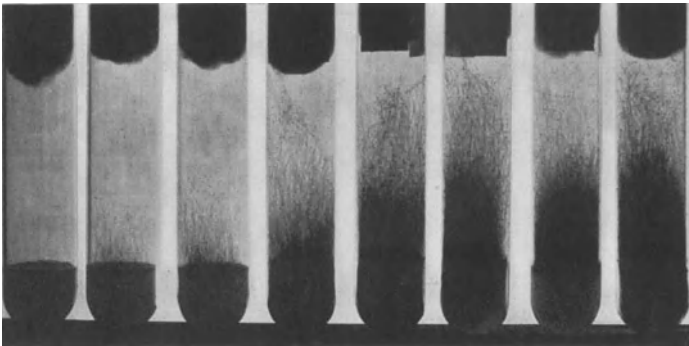


Abb. 9. Wachstum von *Phycomyces* als Funktion der Aneurindosis (in 25 ccm festem Nährboden). Optimum bei 0,4 γ.

genügender Vitaminversorgung eine oberflächliche Decke, aus der sich die Sporangienträger mit den Sporangien in die Luft erheben. Die Sporangienträger sind zunächst gelb. Mit zunehmender Reife werden sie schwarz, womit die Entwicklung der Kultur beendet ist. Der Pilz synthetisiert große Mengen von β-Carotin [SCHOPFER (9)].

Die verschiedenen Stadien der Entwicklung, die mit steigenden Vitaminkonzentrationen zu beobachten sind, lassen sich bei optimaler Vitamindosis auch in Funktion der Zeit feststellen.

d) Entwicklung und Aneurinwirkung als Funktion der Zeit.

Mit 1⁰/₁₀₀ Asparagin und 0,6 γ Aneurin ergeben sich folgende Trockengewichte (Temperatur 23⁰) (s. Abb. 10, S. 28).

Tabelle 2.

Nach 5	7	8	9	10	12	14 Tagen
6,5 ¹	72 ²	78	80	86	86	88 mg

¹ Bildung eines untergetauchten Myzels.

² Bildung einer oberflächlichen Decke und des Luftmyzels.

Vom 5.—7. Tage setzt eine sehr starke Entwicklung ein, welche in hohem Maße von der Temperatur abhängig ist. Temperatur 22—23°. Nach 12 Tagen erscheint das Wachstum sozusagen abgeschlossen, nach längerer Kulturzeit beginnen sich, je nach der Zusammensetzung der Nährlösung, autolytische Vorgänge bemerkbar zu machen, die zu einer Verminderung des Trockengewichtes führen können.

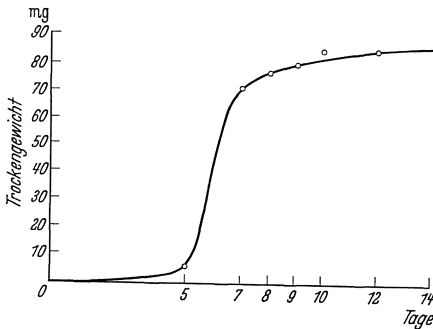


Abb. 10. Entwicklung von *Phycomyces* als Funktion der Zeit mit supraoptimaler Aneurindosis. [Nach Tabelle in SCHOPFER (4).]

e) Der Verlust eines Synthesevermögens als Ursache des Aneurinbedürfnisses.

In den Kulturen ohne Vitamin, die als Kontrolle dienen, bildet sich nur ein sehr schwaches untergetauchtes Myzel. Ist die Notwendigkeit eines Wachstumsfaktors tatsächlich auf einen Verlust des Synthesevermögens im betreffenden Organismus zurückzuführen, so muß angenommen werden, daß in den Sporen minimale Mengen von Wachstumsfaktoren vorhanden sind, die gerade noch für die Keimung ausreichen, jedoch für die weitere Entwicklung nicht mehr genügen.

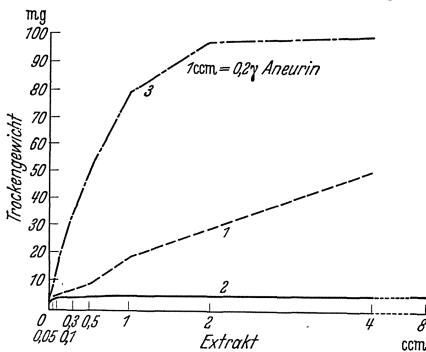


Abb. 11. Entwicklung von *Phycomyces* in synthetischer Nährlösung. 1 mit konzentriertem Sporenextrakt, 2 mit Hungermyzelextrakt, 3 Aneurinkontrollkurve. [Nach Tabellen in SCHOPFER (12).]

Entwicklung wie mit 100 (1 500 000 Sporen), nämlich ein Trockengewicht von 100—110 mg. Geht man von Suspensionen aus, die im Tropfen 200 Sporen enthalten, so sind die Unterschiede in der Ernte gering, ob nun $\frac{5}{100}$ Tropfen (10 Sporen) oder 100 Tropfen (20 000 Sporen) eingepflegt werden.

In synthetischer Nährlösung ohne Wachstumsfaktoren ist auch bei sehr starker Impfung keine Entwicklung möglich. Die in der Spore enthaltene Menge des Wachstumsfaktors genügt höchstens für die Keimung. Dies geht aus folgendem Versuch hervor: Sporen von Myzelien, die mit einem Überschuß von Aneurin (10 γ) gewachsen waren, wurden in fließendem Wasser gewaschen. Die erhaltene Suspension enthielt 228 Sporen in $\frac{1}{10}$ cmm, d. h. 228 000 000 in 100 ccm. Sie wurde 15 Minuten

In einer vitaminreichen Nährlösung spielt die Zahl der eingepflegten Sporen keine Rolle für das Erntegewicht; eine stärkere Aussaat wirkt sich höchstens in einem beschleunigten Wachstum aus [SCHOPFER (12)].

Erfolgt die Impfung der Kulturkolben (25 ccm Nährlösung mit 0,6 γ Aneurin) mit einer Suspension von 15 000 Sporen im Tropfen, so erzielt man mit einem Tropfen die gleiche

bei 115° autoklaviert und filtriert. Nach Entfernung der unlöslichen Substanzen wurde der Trockenrückstand auf 0,169 g/100 ccm bestimmt. Fügt man 0,5 ccm dieser Lösung einer Kultur von 25 ccm Nährlösung bei, also 33,7 γ Trockenrückstand pro Kubikzentimeter, so erhält man ein gutes Wachstum (vgl. Abb. 11, S. 28, Kurve 1). Damit ist deutlich gezeigt, daß in den Sporen Wachstumsfaktoren enthalten sind; allerdings in so geringen Mengen, daß sie nur nach Anreicherung nachweisbar sind.

Es wurden nun Sporen in synthetischer Nährlösung ohne Vitamin zur Keimung gebracht. In 10 Liter Nährlösung erhielt man im ganzen 1 g des untergetauchten, weißen Myzels. Es wurde damit eine Aufschwemmung in Wasser vorbereitet, und zwar in der Weise, daß die Rohstoffe des Pilzes 10% der „Lösung“ ausmachten; davon wurden abgestufte Mengen der Nährlösung beigelegt. Hier war überhaupt keine Wachstumsförderung zu beobachten (vgl. Abb. 11, Kurve 2). Damit ist gezeigt, daß dieses Myzel keine Wachstumsfaktoren mehr enthält, obschon die Konzentration des Myzelauszuges beträchtlich höher war als die des Sporextraktes. Auch N. FRIES konnte diese Tatsache bestätigen. Mit Myzelextrakten von Kulturen, welche mit suboptimalen Dosen von Aneurin gewachsen sind (20 mg = 0,02 γ auf 50 ccm Nährlösung, was in unseren Versuchen eine kaum wahrnehmbare Entwicklung ergibt), konnte keine neue Kultur des Pilzes aktiviert werden.

Dagegen sind Extrakte von Myzelien, welche auf aktivierten Substraten (synthetischen Nährlösungen mit B₁ oder natürlichen Nährböden) gewachsen sind, sehr wirksam, wie der nachstehende Versuch zeigt:

Tabelle 3.

(Kontrolle) 0	1/10	5/10	1	2	4 ccm Extrakt auf 25 ccm Nährlösung
5	18	42	74	84	96 mg Trockengewicht

Es wurden Auszüge von 3 g (Trockengewicht) des Myzels in 100 ccm Wasser verwendet.

Dieser Auszug ist auch für Mikroorganismen, die andere Wachstumsfaktoren benötigen, wirksam.

Es ist damit sicher gestellt, daß das Bedürfnis nach Wachstumsfaktoren, besonders Aneurin, bei *Phycomyces* dadurch bedingt ist, daß der Pilz die Fähigkeit verloren hat, diese Stoffe selber zu synthetisieren.

Es wäre hier noch beizufügen, daß die Aschen des Vitamins, der Maltose wie auch jedes anderen aktiven Extraktes wirkungslos sind. Es sind also hier alle Vorbedingungen für die Annahme eines echten Wachstumsfaktors (Wirkung in kleinen Mengen, Verlust des Synthesevermögens, Unwirksamkeit der Aschenbestandteile) erfüllt. Eine Reihe mineralischer Substanzen erwies sich ebenfalls unwirksam. Die Aneurinwirkung konnte auch durch Zugabe von Metallen wie Zink nicht erhöht werden. Ein Cofaktor scheint somit nicht erforderlich zu sein.

f) Einfluß äußerer Bedingungen auf die Wirkung
des Aneurins.

Alle äußeren Faktoren, welche auf die Entwicklung der Mikroorganismen einwirken, haben auch einen Einfluß auf die Aktivität des Vitamins.

Für *Phycomyces* konnten wir keine Kulturbedingungen ermitteln, die ein Wachstum des Pilzes ohne Aneurin ermöglicht hätten. Weder quantitative noch qualitative Veränderungen der Nährlösung konnten die Vitaminwirkung ersetzen. Auch Änderungen in Temperatur, Licht und p_H usw. blieben wirkungslos. Das p_H -Optimum des Pilzes liegt in gepufferten Nährlösungen ungefähr zwischen p_H 4,5—6,5. Das Wachstum nimmt von p_H 4—4,5 sehr rasch zu, bis zu einem deutlichen Optimum bei p_H 5. Von p_H 6,5—8 tritt eine langsame Abnahme ein.

g) Das Bedürfnis an Wachstumsfaktoren
im Laufe der Entwicklung.

Für *Phycomyces* ist das Aneurin vom Beginn der Entwicklung an notwendig. Wie es sich später verhält, wissen wir nicht. Man kann vermuten, daß dieses Vitamin für die Auslösung des Wachstums unentbehrlich ist, daß aber später der Pilz selber imstande ist, die Synthese auszuführen.

Eine Anzahl Erlenmeyerkolben mit 20 γ Vitamin B_1 in 30 ccm Nährlösung wurden mit Sporen beimpft. Nach 4 Tagen zeigte sich ein zartes, untergetauchtes Myzel, nach 6 Tagen bildete sich eine Decke auf der Oberfläche mit Sporangienträgern. Jetzt wurden die 4- und 6-tägigen Myzelien mit einem sterilen Platindraht aus der Nährlösung herausgenommen, in destilliertes Wasser gebracht, dort mehrmals gewaschen und endlich in eine synthetische Nährlösung ohne Vitamin B_1 übertragen. Trotz dieser Störungen entwickelten sich die Myzelien in der neuen Nährlösung normal weiter, es bildete sich von neuem eine oberflächliche Decke, das gelbe Pigment trat auf, und schließlich erschienen auch die Sporangienträger [SCHOPFER (4)].

10 Kontrollkulturen mit Vitamin B_1 ergaben folgende Trockengewichte: 108, 148, 135, 128, 153, 182, 176, 141, 141 und 151 mg, im Mittel 146,3 mg.

Das am 4. Tage in die neue Nährlösung versetzte Myzel ergab hier ein Trockengewicht von 73 mg, das am 6. Tage übertragene ergab 150 mg.

Es scheint also, daß ein Wachstumsfaktor nicht während der ganzen Entwicklung vorhanden zu sein braucht. Nach 4 Tagen Wachstums in vitaminhaltiger Lösung, in welchen ein Myzeflöckchen gebildet wird, das kaum mehr als 15 mg wiegen dürfte, entwickelt sich der Pilz auch in einer vitaminlosen Lösung fast normal weiter. Erfolgt die Übertragung erst nach 6 Tagen, so ist überhaupt kein Unterschied mehr festzustellen gegenüber den Kontrollen in vitaminhaltiger Nährlösung [SCHOPFER (4)].

Darf man nun daraus schließen, daß der Organismus in späteren Entwicklungsstadien seine Wachstumsfaktoren selbst herzustellen vermag?

Wäre dies der Fall, so müßte auch mit einer suboptimalen Dosis von Aneurin das gleiche Wachstum erreicht werden wie mit einer

optimalen. Dies wurde in allen Versuchen nie beobachtet. Es handelt sich bei unserem Versuch um eine Aufspeicherung des Aneurins, was um so wahrscheinlicher ist, als die hier verwendete Dosis ungefähr 40mal höher ist als die notwendige und optimale Menge. Für diese Annahme sprechen auch die Ergebnisse des nächsten Versuches.

h) Die Aufnahme des Aneurins durch den Thallus von *Phycomyces*.

Das Aneurin kann bei p_H 4,6 an Fullererde adsorbiert werden; dieses Adsorbat ist der internationale Standard des Vitamins B_1 , sein Gehalt ist 2—3 γ in 10 mg Fullererde. Wir stellten fest, daß die Elution im Autoklav bei 115° (10 Minuten) bei p_H 5,5—7 maximal ist. In kaltem Wasser bei p_H 4,5 löst sich sozusagen nichts. Dieses Adsorbat wurde für den folgenden Versuch verwendet.

Der Pilz wurde in BACHschen Flaschen auf die gewöhnliche, vitaminfreie Nährlösung geimpft, wo sich ein sehr dürrtiges, untergetauchtes Myzel bildete. Nach einer Woche wurde durch das Seitenrohr die erforderliche Menge des trockenen Adsorbates beigefügt, das durch die Hitze nicht gelitten hatte. Es entwickelte sich neuerdings eine normale Kultur. Man könnte annehmen, daß der Pilz das p_H in der Weise modifiziert habe, daß eine schnelle Elution ermöglicht worden wäre. Dies ist unwahrscheinlich und konnte in vitro nicht bestätigt werden. Das Merkwürdigste ist aber, daß in der Kultur die Elution kalt möglich ist. Zudem muß sie hier auf Distanz erfolgen, da sich die Schicht des Pulvers auf dem Boden der Kulturflasche befand, mindestens 1 cm vom Pilz entfernt [SCHOPFER (15)].

Wahrscheinlich kann man mit dieser Affinität, die zwischen Vitamin und lebender Substanz besteht (sofern es sich nicht um eine einfache Adsorption auf der Oberfläche der Membranen handelt), die Anhäufung des Vitamins in den ersten Tagen erklären und ebenso die Tatsache, daß *Phycomyces* nachher ohne weitere Zufuhr von Wachstumsfaktoren auszukommen scheint.

Eine solche Affinität von Wachstumsfaktoren gegenüber den Organismen, auf die sie wirken, wurde auch in anderen Fällen festgestellt, NIELSEN und HARTELIUS (9) beobachteten sie zwischen dem Faktor B und *Aspergillus* sowie auch zwischen Bios und Faktor Z gegenüber Hefe. (HARTELIUS und NIELSEN). Durch diese biologische Adsorption besteht die Möglichkeit, Wachstumsfaktoren aus einem komplexen Substrat zu trennen und zu isolieren.

i) Beziehungen der Vitaminwirkung zum allgemeinen Stoffwechsel.

Trotz der Kleinheit der verwendeten Dosen ist die quantitative Wirkung des Aneurins sehr deutlich, doch steht sie in enger Beziehung zum allgemeinen Stoffwechsel (Kohlenstoff und Stickstoff).

Beziehungen zum N-Stoffwechsel. Besonders auffällig sind die Zusammenhänge zwischen dem Asparagin, das als Stickstoffquelle dient, und dem Aneurin. Die dreidimensionalen Darstellungen zeigen (Abb. 12 bis 15, S. 32 und 33), daß mit jeder Dosis des Asparagins von 0,1—4^{0/00} ein

bestimmtes Trockengewicht erreicht werden kann. Dieses ist proportional dem verfügbaren Stickstoff. [Für die Zahlen in diesen graphischen Darstellungen vgl. SCHOPFER (13).] Ebenso kann man beobachten, daß für jede benutzte Asparagindosis die beigefügte Vitaminmenge bis zu einem gewissen Punkte den begrenzenden Faktor darstellt.

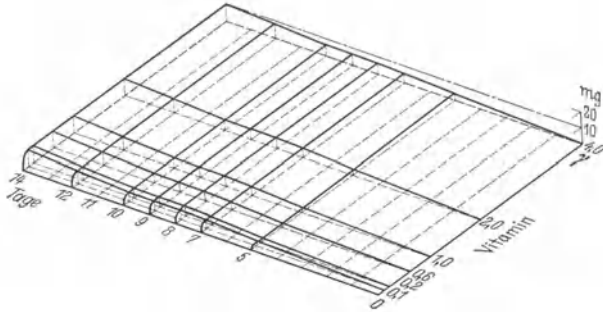


Abb. 12. Entwicklung von *Phycomyces* als Funktion der Zeit und der Aneurinkonzentration. Asparagin 0,1‰. [Nach SCHOPFER (18).]

Von hier an ist ein weiterer Zusatz von Vitamin ohne Wirkung. Man kann also annehmen, daß für jede der hier angewendeten Asparagindosen (und vielleicht darüber hinaus) das maximale Trockengewicht

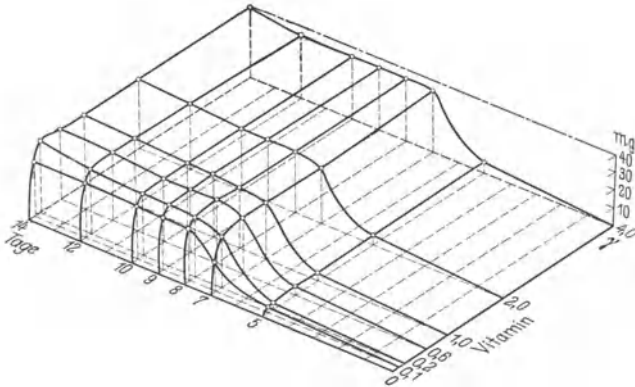


Abb. 13. Entwicklung von *Phycomyces* als Funktion der Zeit und der Aneurinkonzentration. Asparagin 0,5‰. [Nach SCHOPFER (18).]

einer Kultur von der Menge des beigefügten Vitamins B_1 abhängt. Diese Dosis, die für jede gegebene Stickstoffkonzentration verschieden ist, kann als kritische oder optimale Dosis bezeichnet werden. Es muß hier beigefügt werden, daß in allen Versuchen reinstes Asparagin verwendet wurde. Ein mehrmaliges Umkristallisieren änderte die Resultate nicht. Gewisse Handelsproben des Asparagins scheinen durch ihre Verunreinigungen wirken zu können [s. LWOFF und DUSI (2)].

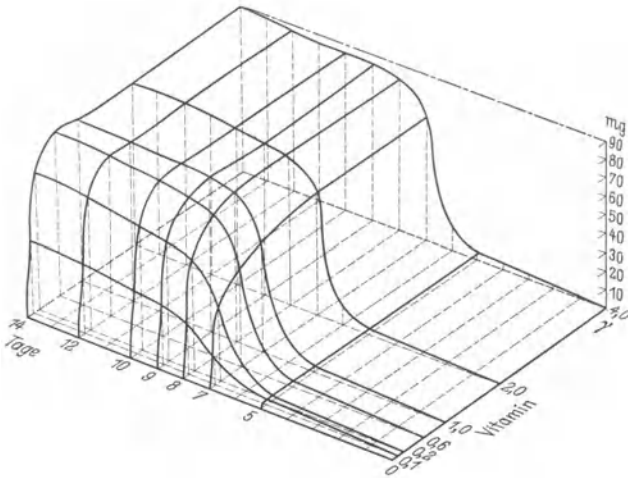


Abb. 14. Entwicklung von *Phycomyces* als Funktion der Zeit und der Aneurinkonzentration. Asparagin $1/100$. [Nach SCHOPFER (18).]

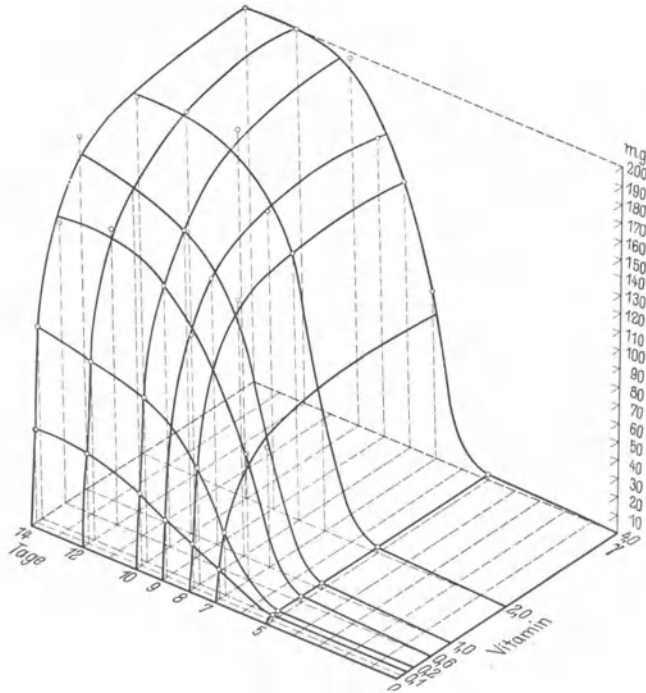


Abb. 15. Entwicklung von *Phycomyces* als Funktion der Zeit und der Aneurinkonzentration. Asparagin $4/100$. [Nach SCHOPFER (18).]

j) Zahlenmäßige Feststellung der Verhältnisse.

Diese Tatsachen lassen vermuten, daß zwischen den drei Faktoren: Maximales Trockengewicht einer Kultur, Gehalt an Asparagin und Vitamindosis bestimmte Beziehungen bestehen. Die hier benützten Zahlen entsprechen den tridimensionalen graphischen Darstellungen. Die Beziehungen, die für uns in Betracht kommen, sind folgende (Tab. 4):

1. Verhältnis zwischen Trockengewicht und Vitamingehalt (C/B).
2. Umgekehrt ergibt die Beziehung (C/A): Asparagin/Trockengewicht die Menge des Asparagins, welche nötig ist, um 1 mg Trockensubstanz zu produzieren. Voraussetzung ist, daß bei optimaler Vitamindosis *eine maximale Entwicklung der Kultur* erfolgt (A/C).
3. Beziehung zwischen der Asparagindosis und der optimalen Vitaminmenge bei maximalem Trockengewicht (A/B).
4. Verhältnis zwischen Maximalgewicht (C/B) und erhaltener Vitamindosis.
5. Umgekehrt ergibt das Verhältnis Vitamin/Trockengewicht (B/C) die Vitaminmenge, die für die Bildung von 1 mg Trockensubstanz nötig ist.

Tabelle 4. Aneurinwirkung auf *Phycomyces*.
Verschiedene Quotienten. [Nach SCHOPFER (13)].

Asparagin		γ Vitamin B ₁ in 25 ccm B	mg Trocken- gewicht C	Quotienten aus				
$\%_{100}$	mg in 25 ccm A			C/A	A/C	A/B	C/B	B/C
				1	2	3	4	5
0,1	2,5	0,05	10	4	0,25	$5 \cdot 10^4$	$2 \cdot 10^5$	0,005
0,5	12,5	0,2	40	3,2	0,31	$6,25 \cdot 10^4$	$2 \cdot 10^5$	0,0051
1	25	0,6	90	3,6	0,28	$4,2 \cdot 10^4$	$1,5 \cdot 10^5$	0,0068
4	100	1	190	1,9	0,55	$1 \cdot 10^5$	$1,9 \cdot 10^5$	0,0052

In diesem Zusammenhang haben nur die Verhältnisse 4 und 5 eine Bedeutung.

a) **Trockengewicht: Vitaminmenge (C/B, Spalte 4).** Dieser Quotient liegt zwischen 150000 und 200000. Der Wert scheint beim kritischen Punkt unabhängig vom Asparagingehalt zu variieren. Wir haben schon bemerkt, daß dieser Quotient bei Verwendung suboptimaler Vitamindosen auf 500000 ansteigt. Die regelmäßige Variation dieses Quotienten geht aus der Kurve von Abb. 16 hervor. Diese Beobachtung ist von ROBBINS und KAVANAGH (6) bestätigt worden. Es scheint, daß der Pilz mit einer kleineren Vitamindosis ökonomischer arbeiten könnte, und daß der Ertrag relativ größer würde.

Die von ROBBINS und KAVANAGH in ihren *Phycomyces*-Kulturen erhaltenen Werte sind beträchtlich höher als die unsrigen. Mit 20 ccm Nährlösung erhielten er maximale Ernten von über 500 mg, während wir in unseren Versuchen in 25 ccm höchstens 80—100 mg erreichen. Dies ist wahrscheinlich darauf zurückzuführen, daß sie eine Asparaginkonzentration von 1% benützten, während unsere Nährlösungen nur $1\%_{100}$ Asparagin enthalten. Diese Ergebnisse bestätigen die von uns 1935 mitgeteilten Beobachtungen (S. 34), die zeigen, daß das erzielte Myzelgewicht von der verwendeten Asparaginmenge abhängig ist. Je höher die Asparagindosis,

desto höher ist die notwendige Menge von Aneurin, um ein optimales Wachstum zu erzielen. Dabei bleibt aber der Quotient Trockengewicht/optimale Vitamindosis konstant.

Auch FRIES gibt für *Phycomyces* Quotienten zwischen 800000 und 1000000 an. Er arbeitete jedoch mit suboptimalen Aneurindosen (maximal 0,002—0,03 γ /25 ccm).

Wie aus den Anfangswerten unserer Kurve (Abb. 16) hervorgeht, erhielten wir auch unter unsern Bedingungen stark erhöhte Werte. Diesen kommt jedoch nach unserer Auffassung keine besondere Bedeutung zu. Der Quotient erhält seinen Wert erst, wenn maximale Erntegewichte mit optimalen Vitamindosen erreicht werden.

3) **Vitaminmenge: Trockengewicht des Mycels (B/C, Spalte 5).** Dieses Verhältnis scheint uns von besonderer Bedeutung zu sein. Es bezeichnet die Vitamindosis, die in der Nährlösung vorhanden sein muß, um die Bildung von 1 mg Trockensubstanz durch den Pilz zu ermöglichen.

Diese Zahl bleibt verhältnismäßig konstant. Unter den angegebenen Bedingungen kultiviert, benötigt *Phycomyces* 5—6,8 $m\gamma^1$ von Vitamin B₁, um 1 mg Trockensubstanz zu bilden. Die nötige Vitaminmenge beträgt also nur etwa $\frac{1}{200\,000}$ des erzielten Trockengewichtes.

Allerdings kann dieser Wert nicht mit irgendeiner Kultur und einer beliebigen Vitamindosis bestimmt werden. Es ist unerlässlich, eine Reihe von Versuchen mit konstantem Asparagingehalt der Nährlösung und variablen Vitaminmengen durchzuführen. Nur die optimale Vitamindosis darf für die Bestimmung dieses Quotienten verwendet werden, wie durch folgendes Beispiel gezeigt werden soll:

Mit $\frac{1}{100}$ Asparagin ist zur Bildung von 88—90 mg Trockensubstanz eine Dosis von 0,5—0,6 γ B₁ erforderlich. Daraus läßt sich ein Quotient Vitaminmenge/Trockengewicht von 0,0068 γ (6,8 $m\gamma$) errechnen. Mit 4 γ Vitamin kann bei gleicher Asparaginkonzentration das Myzelgewicht nicht erhöht werden. Würden wir aber die Berechnung auf dieser Grundlage durchführen, so kämen wir auf einen Quotienten von 0,044 γ (= 44 $m\gamma$), also auf mehr als 6fache des richtigen Wertes. Dieser Zahl würde aber keine Bedeutung zukommen, sie kann keine Vergleichsmöglichkeiten bieten, da hier Vitamin im Überschuß in der Nährlösung enthalten ist.

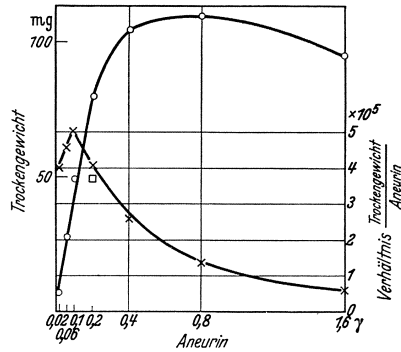


Abb. 16. Erntegewicht und Verhältnis: Ernte/Vitamindosis bei steigender Aneurinkonzentration. *Phycomyces*. [Nach SCHOPFER (4).]

¹ 1 $m\gamma$ = $\frac{1}{1000} \gamma$ = 0,00000001 g (10^{-9} g).

Die Konstanz dieser Zahl bewog uns dazu, sie als wirkliche Einheit zu betrachten. Diese kann folgendermaßen definiert werden: *Die Phycomyces-Einheit des Vitamins B₁ ist diejenige Menge reinen kristallisierten Vitamins, die zur Bildung von 1 mg Trockensubstanz notwendig ist.* Unter unseren Versuchsbedingungen — optimale Vitaminmenge, Zucker im Überschuß, Kultur bei 20° C im Licht, in Erlenmeyerkolben von 150 ccm, enthaltend 25 ccm Nährlösung — entspricht diese Menge ungefähr $5 \cdot 10^{-9}$ g. Sie ist innerhalb gewisser Grenzen von der Asparaginkonzentration unabhängig. Diese Zahl von 5 my kann nicht als absolut konstant betrachtet werden; sie kann zwischen 4—6 my variieren. Die *Phycomyces*-Einheit ist als biologische Konstante zu betrachten.

Die engen Beziehungen zwischen der Menge des Asparagins und der optimalen Vitaminkonzentration weisen darauf hin, daß das Aneurin eventuell in den Stickstoffstoffwechsel eingreifen könnte. Diese Annahme wurde unter allen Vorbehalten zu einer Zeit aufgestellt, als über die Bedeutung des Vitamins B₁ als Cocarboxylase noch nichts bekannt war [SCHOPFER (18)]. Sie kann jedoch heute nicht mehr aufrecht erhalten werden (s. S. 85, Wirkungsweise des Aneurins). Man kann nur feststellen, daß enge Beziehungen zwischen dem N-Stoffwechsel und dem Vitamin B₁ bestehen, was aber noch nicht beweist, daß die beiden Faktoren in kausaler Beziehung stehen.

Dies erscheint noch viel deutlicher, wenn man die Beziehungen zwischen dem in der Nährlösung vorhandenen Zucker und der optimalen (kritischen) Aneurindosis untersucht. Die optimale Konzentration der Glukose ist unter unseren Versuchsbedingungen etwa 1%. Ist weniger Zucker vorhanden, so bleibt das Trockengewicht unter 90—100 mg. In diesem Falle wird das der vorhandenen Zuckermenge entsprechende Maximalgewicht des Myzels schon bei einer suboptimalen Vitaminmenge erreicht. Wir haben also wieder dieselbe Erscheinung wie beim Asparagin, nur tritt sie hier etwas weniger deutlich zutage, da für den Zucker viel größere Unterschiede in der Konzentration nötig sind, um sich im Trockengewicht auszuwirken.

Diese zahlenmäßigen Erörterungen über die Wirkungen des Aneurins mögen vielleicht etwas weitschweifig erscheinen. Sie waren jedoch notwendig, um den eindeutigen Beweis zu erbringen, daß die Wachstumsfaktoren quantitativ wirken. Sie zeigen uns, daß die unbestimmte Vorstellung einer rein qualitativen Wirkung der biologischen Katalysatoren nicht mehr haltbar ist. Diese Wirkung muß mit der allgemeinen Ernährung in Zusammenhang gebracht werden; dann wird sie sich durch exakte Beziehungen ausdrücken lassen. Allerdings sind diese Zusammenhänge von einer solchen Feinheit, daß sie sich nur bei extremer Genauigkeit der Versuchsanordnung erfassen lassen. Bei der gewöhnlichen Technik der Kulturversuche lassen sich diese Beziehungen meist nicht erkennen.

Die quantitative Wirkung des Aneurins auf *Phycomyces* wurde wiederholt auch von anderen Autoren, die diesen Pilz als Test benützten, festgestellt. Besonders gute Bestätigung fanden unsere Ergebnisse durch die sehr eingehenden Untersuchungen von N. FRIES (1938), der mit suboptimalen Aneurindosen arbeitete und nur das untergetauchte Myzel berücksichtigte.

Allerdings besteht für uns kein Grund, sich wie FRIES auf suboptimale Dosen zu beschränken. Das Luftmyzel von *Phycomyces* ist eine direkte Fortsetzung des untergetauchten Thallus. Es handelt sich dabei nicht um einen neuen Organismus, der sich wie ein Fruchtkörper eines höheren Pilzes aus dem primären Myzel heraus entwickelt.

Wir haben zwei Gruppen von Mucorineen unterschieden, die sich gegenüber Wachstumsfaktoren (besonders Aneurin) verschieden verhalten: Die auxo-autotrophen Arten vermögen sich ohne beigefügte Wachstumsfaktoren zu entwickeln, während die auxo-heterotrophen Arten auf diese angewiesen sind. Eine Anzahl anderer Mucorineen sind wie *Phycomyces* auf Aneurin als Wachstumsfaktor angewiesen, nämlich *Absidia ramosa*, *Mucor Ramannianus*, *Chaetocladium Brefeldii*, *Pilaira anomala*, *Parasitella simplex*, *Dicranophora fulva*, *Choanephora persicaria*, *Choanephora cucurbitarum*.

Da einige dieser Arten, die gründlicher untersucht wurden, in Wirklichkeit nur von der einen Komponente des Aneurins abhängig sind, sollen sie später besprochen werden.

k) Mucorineen, die nicht auf Aneurin angewiesen sind.

Es ist merkwürdig, daß trotz der absoluten Heterotrophie der Mucorineen (Saphrophyten und Parasiten) diese Pilze gegenüber den Wachstumsfaktoren, wenigstens in bezug auf das Aneurin, in der Regel autotroph sind. Bei den nachstehenden Arten zeigt sich höchstens ausnahmsweise eine schwache Empfindlichkeit gegenüber Aneurin.

<i>Mucoraceen: Mucor hiemalis</i>	(+ und — Geschlecht)
„ <i>mucedo</i>	(+ und — Geschlecht)
<i>Absidia glauca</i>	(+ und — Geschlecht)
„ <i>repens</i>	(+ und — Geschlecht)
„ <i>orchidis</i>	(+ und — Geschlecht)
„ <i>coerulea</i>	(+ und — Geschlecht)
<i>Sporodinia grandis</i>	
<i>Zygorhynchus Dangeardii</i>	
„ <i>Moelleri</i>	
<i>Thamnidaceen: Thamnidium elegans</i>	
<i>Mortierellaceen: Mortierella pusilla</i>	
„ <i>isabellina</i>	
<i>Choanephoraceen: Cunninghamella echinulata</i>	
„ <i>elegans</i>	
<i>Cephalidaceen: Piptocephalis Freseniana</i>	
<i>Syncephalastrum cinereum.</i>	

ROBBINS und KAVANAGH (6) fügen folgende auxo-autotrophe Arten bei: *Circinella aspera*, *Cunninghamella* sp. (Nr. 102), *Mortierella candelabrum*, *Mucor circinelloides*, *Mucor griseolilacinus*. Sie bestätigen unsere Beobachtungen in bezug auf *Absidia glauca*, *Thamnidium elegans* und *Zygorhynchus Moelleri*.

Keine dieser Arten ist vollständig auf Aneurin angewiesen. Einige von ihnen werden durch das Vitamin B₁ nur schwach gefördert [SCHOPFER (3)]. Man könnte hier von einer Stimulation sprechen, doch konnte der Beweis nicht erbracht werden, daß diese Stimulation durch einen teilweisen Verlust des Synthesevermögens bedingt ist.

Bemerkenswert ist, daß die Arten, die nicht auf Aneurin reagieren, oft durch Weizenkeimextrakte (Aneurin Gehalt 15 γ pro Gramm) stark gefördert werden. Es handelt sich möglicherweise hier um eine reine Nährstoffwirkung irgendeines Stoffes, der in diesem Extrakt vorhanden ist. Die Substanz ist ziemlich widerstandsfähig gegen Hitze. Wir vermuteten ferner die Anwesenheit eines anderen Wachstumsfaktors im Weizenkeimextrakt, den wir provisorisch als Faktor M bezeichnet haben. Wir werden später darauf zurückkommen (S. 82).

Es wurde schon darauf hingewiesen, daß Auszüge von *Phycomyces*-Myzel, das in aktiver Nährlösung gewachsen ist, eine synthetische Nährlösung aktivieren können. Es ist nun wichtig, zu untersuchen, wie sich Myzelextrakte auxo-autotropher Arten in dieser Hinsicht verhalten. Sechs dieser Arten wurden in rein synthetischer Nährlösung kultiviert (250 ccm). Die Myzelien wurden mit Quarzsand zerrieben und Auszüge hergestellt, deren Gehalt an Pilztrockensubstanz ungefähr 10% der Lösung ausmachte. Diese wurden der gewöhnlichen synthetischen *Phycomyces*-Nährlösung in abgestuften Mengen (0,1—2 ccm) beigelegt. Es ergaben sich folgende Myzelgewichte (Tabelle 5):

Tabelle 5. Wirkung von Extrakten verschiedener aneurinautotropher Pilze auf *Phycomyces*. [Nach SCHOPFER (10)].

	Menge des Extraktes in ccm				
	0 mg	$\frac{1}{10}$ mg	$\frac{5}{10}$ mg	1 mg	2 mg
<i>Extrakt von:</i>					
<i>Absidia repens</i>	0	18	31	59	—
<i>Sporodinia grandis</i>	0	20	31	48	89
<i>Absidia glauca</i>	0	7	17	21	39
<i>Absidia orchidis</i>	0	17	39	67	65
<i>Mucor mucedo</i>	0	13	21	33	64
<i>Mucor hiemalis</i>	0	12	51	67	—

Die Extrakte der Myzelien von auxo-autotrophen Mucoraceen vermögen also eine synthetische Nährlösung so zu aktivieren, daß *Phycomyces* darauf ziemlich gut gedeiht. Diese Tatsache spricht wiederum sehr zugunsten der Annahme, daß *Phycomyces* die Fähigkeit verloren hat, diese Wachstumsfaktoren selber zu synthetisieren.

Allerdings haftet solchen Versuchen ein Mangel an. Es ist mehr als wahrscheinlich, daß die Myzelauszüge Stoffe enthalten, die für *Phycomyces* als eigentliche Nährstoffe wirken. Da wir aber keine Kulturbedingungen kennen, unter welchen sich dieser Pilz ohne Wachstumsfaktoren zu entwickeln vermag, und da ferner nach den bisherigen Ergebnissen Aneurin allein diese Wirkung auf *Phycomyces* ausübt, liegt doch der Schluß nahe, daß die aktivierenden Mycelextrakte Aneurin oder ähnlich wirkende Wachstumsfaktoren enthalten müssen.

1) Hemmende Wirkung des Aneurins auf *Rhizopus*-Arten.

Daß Aneurin auf einen Pilz hemmend wirken könnte, dürfte nach unseren bisherigen Ausführungen kaum erwartet werden. Eine solche Hemmung wurde bis jetzt auch nur bei *Rhizopus*-Arten beobachtet. Während für auxo-heterotrophe Arten eine Zugabe von 0,5 γ Aneurin zu der synthetischen Nährlösung unumgänglich notwendig ist, bewirkten 1—2 γ desselben Aneurins in der gleichen Nährlösung schon eine Verminderung der Ernte um 50% [SCHOPFER (11)].

Tabelle 6. Wirkung des Aneurins auf *Rhizopus*-Arten. [Nach SCHOPFER (11)].

	Myzelgewicht in mg	
	ohne Aneurin	mit 20 γ Aneurin.
<i>Rhizopus nigricans</i> . . .	49	46
„ <i>maydis</i> . . .	17	17
„ <i>oryzae</i> . . .	95	67
„ <i>chinensis</i> . . .	21	14
„ <i>bovinus</i> . . .	6	3
„ <i>tritici</i> . . .	88	43
„ <i>tonkinensis</i> . . .	86	31
„ <i>nodosus</i> . . .	90	48 (10 γ B ₁)
„ <i>suinus</i> . . .	63	28
„ <i>japonicus</i> . . .	70	31 (10 γ B ₁)

Abgesehen von den zwei ersten Arten, welche in diesem Versuche nicht auf Aneurin reagierten, wird bei allen andern die Entwicklung durch Aneurinzusatz stark gehemmt.

ROBBINS und KAVANAGH (6) bestätigen diese Tatsachen mit *Rhizopus nigricans* ohne Angabe von Erntegewichten. Das (—) Geschlecht zeigt die Hemmung in stärkerem Maße als das (+) Geschlecht.

Auch diese Hemmung ist quantitativ nachweisbar. Sie beginnt mit einer raschen Abnahme bei 1 γ B₁, welche je nach der Art bis zu 20 γ andauert (Abb. 17, 18, S. 40). Es handelt sich um eine eigentliche toxische Wirkung, die allerdings die Eigentümlichkeit hat, daß sie mit zunehmender Dosis nicht stärker wird. Es muß gleichfalls bemerkt werden, daß die hier maximal toxisch wirkenden Dosen bedeutend höher sind als das gewöhnliche Optimum bei der fördernden Wirkung. Diese Erscheinung kann vorläufig noch nicht erklärt werden. Es ist schwer verständlich, daß ein Stoff, der für einen Organismus ausgesprochen fördernd, ja direkt unentbehrlich ist, nun für einen immerhin nahe verwandten Pilz toxisch sein sollte. Allerdings kennt man bei

Tieren Hypervitaminosen, die zu Störungen führen, doch ist eine solche Erklärung hier nicht anwendbar.

Es scheint nicht ausgeschlossen, daß das Aneurin auch bei anderen Organismen in hohen Dosen hemmend wirken könnte. Dabei würde es sich einfach wie bei *Rhizopus* um eine gesteigerte Empfindlichkeit gegenüber der Aneurinwirkung handeln. Die Frage müßte noch geprüft

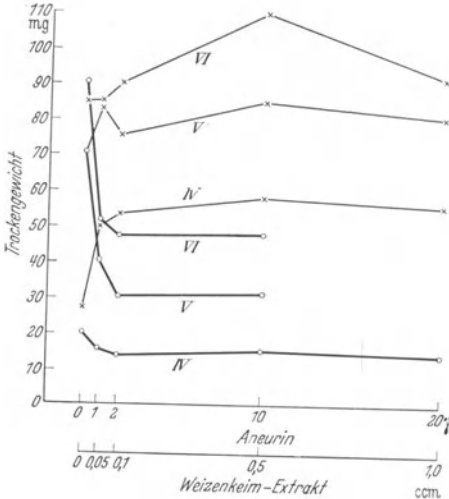


Abb. 17. Wirkung des reinen Aneurins (o—o) und des B₁-haltigen Weizenkeimextraktes (x—x) auf *Rhizopus*-Arten. I *Rh. maydis*, II *Rh. nigricans*, III *Rh. solinus*. [Nach SCHOPFER (11).]

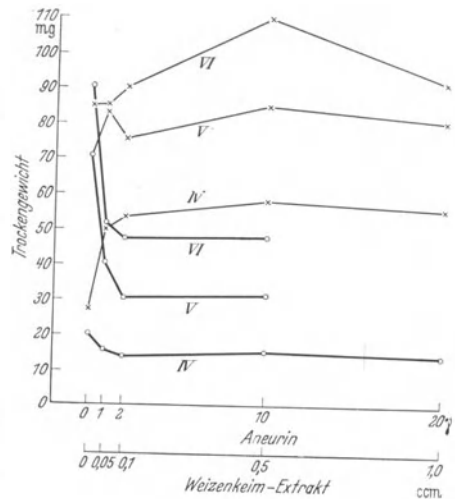


Abb. 18. Wirkung des reinen Aneurins (o—o) und des B₁-haltigen Weizenkeimextraktes (x—x) auf *Rhizopus*-Arten. IV *Rh. chinensis*, V *Rh. japonicus*, VI *Rh. nodosus*. [Nach SCHOPFER (11).]

werden, ob sich hier die oligodynamische Wirkung einer als Beimengung des Aneurins vorkommenden Substanz zeigt.

Alle diese Tatsachen erscheinen um so überraschender, als das Myzel-extrakt von *Rhizopus nigricans* sehr fördernd auf *Phycomyces* wirkt. Mit 1 ccm eines *Rhizopus*-Extraktes zu 10% ergibt sich für *Phycomyces* eine Ernte von 48 mg.

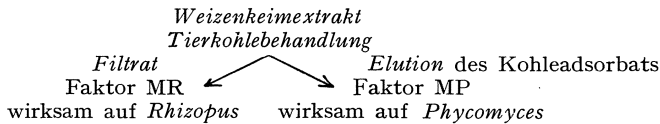
Endlich ist noch ein Punkt zu erwähnen. Es betrifft die fördernde Wirkung des Weizenkeimextraktes, welche für alle Arten in Erscheinung tritt. Wir haben 1935 (11) angenommen, daß ein Faktor M dabei eine Rolle spielt.

m) Der Faktor M. Wirkung des Weizenkeimextraktes.

Als Faktor M wurde der vom Vitamin B₁ verschiedene, hitze- und laugenbeständige, auf Mucorineen wirksame Wachstumsfaktor des Weizenkeimextraktes (oder die Gesamtheit dieser Stoffe) bezeichnet.

Eingehendere Untersuchungen (SCHOPFER und MOSER) haben gezeigt, daß diese Substanzen tatsächlich vorhanden sind, daß aber die für

Rhizopus wirksamen Faktoren von den auf die anderen auxo-heterotrophen Mucorineen wirkenden Substanzen verschieden sind. Die Trennung dieser Faktoren kann folgendermaßen durchgeführt werden:



Diese *Rhizopus*-Arten sind nur wenig voneinander verschieden. LENDNER betrachtete sie früher als physiologische Rassen einer Art.

R. japonicus und *tonkinensis* gehören der Gruppe *Oryzae* und sind dieser Art sehr ähnlich.

Rh. suinus NIELSEN = *Rh. Cohnii*.

Rh. chinensis und *tritici* BERLESE et DE TONI, sind Rassen von *Rh. arrhizus*.

Rh. bovinus und *nodosus* wären Synonyme zu *Rh. arrhizus* (s. ZYCHA 1935).

In unseren Experimenten scheinen sich diese Sippen verschieden zu verhalten.

Der Faktor MR wirkt nur in starker Dosis und kann durch Asparagin ersetzt werden; er ist sehr hitzebeständig. Es scheint sich dabei nicht um einen echten Wachstumsfaktor zu handeln. In verschiedener Beziehung (z. B. in der Resistenz gegen Oxydation) nähert sich der Faktor MR den B-Substanzen von NIELSEN, die auf *Aspergillus* wirken. Auch der Faktor MP ist hitzebeständig. Wir wissen [SCHOPFER und JUNG (6), MOSER], daß er wenigstens zum Teil aus den Bestandteilen des Aneurinmoleküls besteht (s. S. 82).

Wir mußten uns etwas eingehender mit *Phycomyces* beschäftigen, weil dieser Pilz in bezug auf seinen Aneurinbedarf am besten bekannt ist. Zudem wird diese Art in allen physiologischen Laboratorien gezüchtet und heute oft als Test für den quantitativen Nachweis des Vitamins B₁ benutzt. Wir können noch beifügen, daß alle anderen Wachstumsfaktoren, wie Ascorbinsäure, Vitamin B₂, Lactoflavin, Vitamin B₆ (Adermin), Inositol, Pantothen-säure, Biotin (KÖGL und FRIES) und Heteroauxin, keinen Einfluß auf die Entwicklung von *Phycomyces* ausüben. Eine quantitative, fördernde Wirkung kommt also nach unseren gegenwärtigen Kenntnissen nur dem Aneurin oder dessen Bestandteilen zu.

2. Phytophthora und andere Oomyceten.

LEONIAN (1) erkannte als erster die Notwendigkeit von Wachstumsfaktoren für *Phytophthora cactorum*. Er glaubte, eine auf das Wachstum und eine zweite auf die sexuelle Reproduktion wirkende Substanz annehmen zu können (2), und fand diese Stoffe in gewissen Grünalgen und in Wurzelgeweben (1, 3). Eine Wirkung des Aneurins erkannte LEONIAN nicht.

KÖGL und FRIES hoben die Bedeutung des Aneurins für *Phytophthora cactorum* hervor. Bei Ausschluß der anderen Wachstumsfaktoren, Bios und Inosit, ist Aneurin für diesen Pilz unentbehrlich, was besonders

von FRIES näher untersucht wurde. Mit 10 $\text{m}\gamma$ (0,01 γ) Aneurin bildet sich ein sehr schwaches untergetauchtes Myzel. Mit 1 γ B_1 wird nach einer Kulturdauer von 60 Tagen ein Myzelgewicht von 112,9 mg erzielt. Die Wirkung ist streng quantitativ, aber FRIES gibt auch für diesen Pilz das eigentliche Optimum der Vitaminkonzentration nicht an (Abb. 19).

ROBBINS (1) bestätigt diese Ergebnisse mit *Phytophthora cactorum* und stellte fest, daß sich eine Anzahl anderer Arten gleich verhält (2).

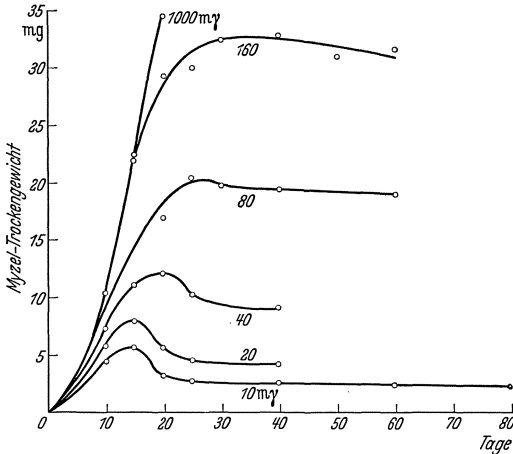


Abb. 19. Aneurinwirkung auf *Phytophthora cactorum* in synthetischer Nährlösung. (Nach FRIES.)

verwendete Nährlösung D enthielt außer den gewöhnlichen Bestandteilen die Metalle Cu, Mo, Fe und Zn (Mischung von STEINBERG¹). ROBBINS stellte keine Kurven in Funktion der Zeit und Konzentration auf. Wir können die Optima nur aus der Figur von FRIES bestimmen.

Diese Organismen zeigen in ihrer Entwicklung große Übereinstimmung mit den Mucorineen, und ihre Wachstumskurven lassen sich fast mit denjenigen von *Phycomyces* vergleichen.

B. Einzellige Organismen.

1. Protobasidiomyceten: *Ustilago violacea*².

Die Brandpilze (Ustilagineen) spielen in der Phytopathologie eine wichtige Rolle und sind besonders interessant durch die Bildungsabweichungen (Biomorphosen), die sie auf gewissen Wirten hervorrufen. Die

¹ Zusammensetzung der Nährlösungen: Lösung C: $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,5%, KH_2PO_4 1,50%, NH_4NO_3 0,05%, Asparagin 1,5%, Glukose 5%. Lösung D: KNO_3 0,1%, NH_4NO_3 0,1%, NH_2PO_4 0,05%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,025%, Glukose 2,5%, und STEINBERGSche Mischung: 0,02 Mo, 0,05 Fe, 0,04 Cu, 0,18 Zn, 0,02 Mn $\frac{\text{‰}}{100}$.

² Es wird hier die Kulturform des Pilzes, d. h. das einzellige Sproßmyzel, berücksichtigt.

Es sind dies: *Ph. cambivora*, *Ph. cactorum*, *Ph. cinnamomi*, *Ph. Boehmeriae*, *Ph. cryptogea*, *Ph. capsici*, *Ph. palmivora*, *Ph. Drechsleri* und *Ph. parasitica*. Nur *Ph. Boehmeriae* und *Ph. cambivora* zeigen ohne Vitamin ein schwaches Wachstum, während die anderen Arten ohne Aneurin überhaupt nicht wachsen. Es käme natürlich auch noch die Zusammensetzung der Nährlösung in Betracht. Die von ROBBINS für die Kultur von *Phytophthora*

Kultur auf natürlichen Nährböden bietet, wie schon BREFELD gezeigt hat, keine Schwierigkeiten. Einige Arten, wie z. B. *Ustilago zaeae*, lassen sich auch in synthetischen Nährlösungen kultivieren. Bei *Ustilago violacea* gelingt dies aber nicht.

Die Infektion von *Melandrium* durch *Ustilago violacea* ist mit auffälligen Erscheinungen verbunden (Abb. 20). Wird eine weibliche Pflanze,

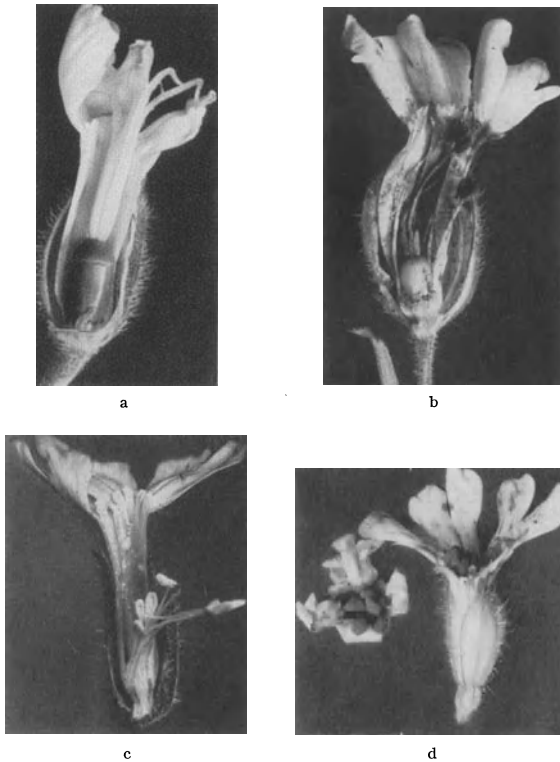


Abb. 20 a—d. *Melandrium album*. a ♀ normal, b ♀ infiziert mit *Ustilago violacea*, c ♂ normal, d ♂ infiziert.

die normalerweise keine Antheren ausbildet, befallen, so wird sie unter dem Einfluß des Pilzes phänotypisch zwittrig, d. h. sie bildet Staubblätter mit Antheren aus. Anstatt der Pollenkörner entwickeln sich aber in den Antheren die Brandsporen des Pilzes. Diese Erscheinung der parasitären Kastration wurde zuerst von CORNU und GIARD beobachtet (vgl. CORRENS). Allerdings muß erwähnt werden, daß sich auch bei scheinbar gesunden, weiblichen Pflanzen häufig Anlagen oder Rudimente von Staubblättern nachweisen lassen. Diese sind jedoch sehr klein und tragen an der Spitze winzige kugelige Antheren. Durch die Einwirkung des Pilzes wird nun in der weiblichen Pflanze die Weiterentwicklung dieser Anlagen ausgelöst, so daß die gehemmte männliche Geschlechtstendenz zutage tritt. Über den Mechanismus dieser Umstimmung weiß man eigentlich noch nichts.

a) Saponin als Wirkstoffquelle.

Die Feststellung des Bedürfnisses an Wachstumsfaktoren dieses Pilzes ging vom gleichen Ausgangspunkt aus, wie es für *Phycomyces* gezeigt wurde, nur handelt es sich hier nicht um Maltose, sondern um Saponin. BLUMER (1937) versuchte vergeblich, den Pilz in synthetischer Nährlösung¹ mit zahlreichen verschiedenen C- und N-Quellen zu züchten. Ein schwaches Wachstum ergab sich nur mit einem Handels-

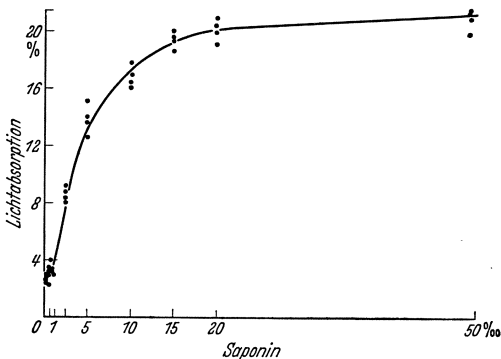


Abb. 21. Wirkung des Saponins als Kohlenstoff- und Wirkstoffquelle auf *Ustilago violacea*. Auf der Ordinate nephelometrische Werte. (Nach BLUMER.)

saponin als Kohlenstoffquelle und in noch geringererem Maße mit Inulin, Stärke, Glycerin und der gewöhnlichen Maltose. Alle diese Substanzen sind nicht frei von Begleitstoffen, und nach mehrfacher Umkristallisation verschwand auch ihre fördernde Wirkung auf den Pilz. Die Vorstellung, daß dem Saponin für diesen Pilz eine spezifische Wirkung als Kohlenstoffquelle zukomme, erschien auf den ersten Blick bestechend, weil

diese Glukoside in den Nährpflanzen von *Ustilago violacea*, den *Caryophyllaceen*, sehr verbreitet sind. Sie kommen allerdings auch in anderen Familien häufig vor.

Da aber keine Anzeichen eines enzymatischen Abbaues durch den Pilz vorhanden waren, und da ferner ein weitgehend gereinigtes Saponinpräparat (ROSENTHALER) keine Förderung mehr bewirkte, drängte sich der Gedanke auf, daß die günstige Wirkung des Saponins auf einer Verunreinigung beruhen könnte. Es zeigte sich, daß die Aschensubstanzen des Saponins ohne Wirkung auf den Pilz waren, so daß die Annahme der Wirkung einer Verunreinigung vitaminischer Natur immer mehr in den Vordergrund trat. Diese Hypothese wurde auch durch die Ergebnisse eines Versuches zur Reinigung des Saponins und zur Anreicherung der wirksamen Substanzen gestützt. Die Wirkung des Saponins ist quantitativ, und das Saponin stellt für *Ustilago* den begrenzenden Faktor dar, genau wie die Maltose KAHLBAUM für *Phycomyces* (Abb. 21).

b) Wirkung des Aneurins. Feststellung des Optimums.
Quantitative Wirkung:

Mit Verwendung von reinem Aneurin konnte nun eine bedeutend stärkere Förderung der Entwicklung erreicht werden als mit Saponin

¹ Synthetische Nährlösung: wie für *Phycomyces*, s. Fußnote S. 23.

oder mit irgendwelchen Extrakten von Pflanzen. Das Vitamin B₁ ist damit als wichtigster Wachstumsfaktor für *Ustilago violacea* festgestellt [SCHOPFER und BLUMER (1, 2)].

Die Feststellung der optimalen Aneurinkonzentration war mit gewissen Schwierigkeiten verbunden. Das Optimum ist in erster Linie von der Stärke der Impfung abhängig. Bei starker Impfung genügt schon der Zusatz von 4 μg pro Kultur für eine gute Entwicklung. Bei sehr schwacher Impfung wird das Optimum erst mit 10–20 μg erreicht. Wir stehen also hier vor derselben Tatsache, die seinerzeit

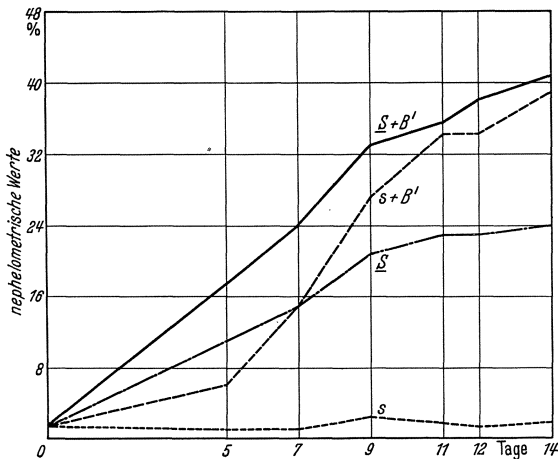


Abb. 22. Einfluß der Impfstärke auf die Entwicklung von *Ustilago violacea*. s schwache Impfung, sB schwache Impfung mit Aneurin in supraoptimaler Dosis, S starke Impfung, SB starke Impfung mit Aneurin in supraoptimaler Dosis. [Nach SCHOPFER und BLUMER (2).]

die Polemik zwischen PASTEUR und LIEBIG heraufbeschworen hatte, und für die erst viel später WILDIERS eine Erklärung fand. Bei starker Impfung gelangt mit dem Impfmateriale eine relativ bedeutende Menge von Wachstumsfaktoren in die Nährlösung, wodurch ein gewisses Wachstum der Kultur ermöglicht wird (Abb. 22). Für eine maximale Entwicklung ist deshalb bei starker Impfung schon ein bedeutend geringerer Vitaminzusatz ausreichend. Bei gleich langer Versuchsdauer werden aber schließlich bei starker und bei schwacher Impfung ungefähr dieselben maximalen Werte erreicht. Dagegen kann man feststellen, daß die Wachstumskurve um so steiler ansteigt und das Maximum entsprechend früher erreicht wird, je stärker die Impfung war.

Ein anderer Umstand, der für *Ustilago* im Gegensatz zu *Phycomyces* eine bedeutende Rolle spielt, ist das Alter des Impfmateriale. Da in alten Kulturen immer ein gewisser Prozentsatz der Zellen nicht mehr entwicklungs-fähig ist, wachsen die Kulturen bei gleich starker Impfung um so langsamer, je älter das Impfmateriale war. Gegen das Ende der Versuchszeit gleichen sich jedoch diese Unterschiede aus, und die erreichten Maximalwerte decken sich ungefähr.

Für die Festsetzung der tatsächlichen optimalen Impfmenge muß natürlich die Impfung möglichst schwach sein. In diesem Falle liegt das Optimum bei 0,01—0,02 γ pro 25 ccm Nährlösung (Abb. 23 und 24, S. 46 und 47).

So eindeutig wie bei *Phycomyces* läßt sich das Optimum für *Ustilago* nicht festsetzen. Die optimalen Werte werden hier auch durch die Dauer der Kultur mitbestimmt, wie aus der folgenden Tabelle ersichtlich ist (Tabelle 7).

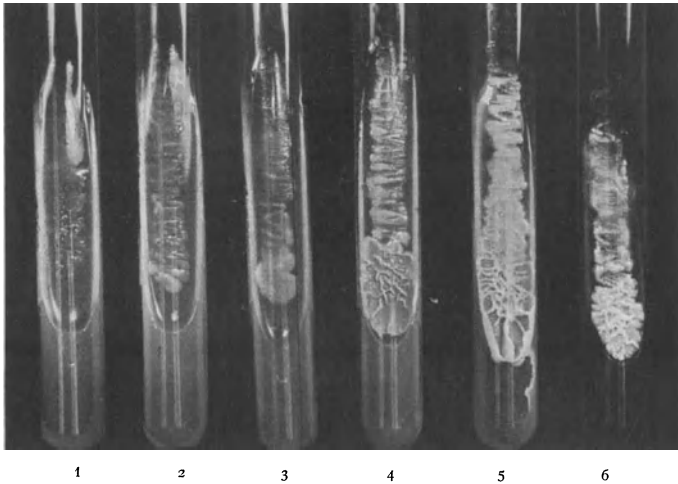


Abb. 23. Aneurinwirkung auf *Ustilago violacea* auf ausgewaschenem Agar (10 ccm). Nr. 1 ohne Nährlösung, Nr. 2—5 mit Nährlösung, Nr. 3 mit 4 $m\gamma$ B₁, Nr. 4 mit 8 $m\gamma$ B₁, Nr. 5 20 $m\gamma$ B₁, Nr. 6 gewöhnliches Agar mit 1% Wanders Maltin. [Nach SCHOPFER und BLUMER (2).]

Tabelle 7. Nephelometrische Werte mit steigenden Aneurindosen bei starker Impfung in Funktion der Zeit bei *Ustilago violacea*.

Nephelometrische Werte nach	γ Aneurin pro 25 ccm							
	0	0,001	0,002	0,004	0,006	0,008	0,01	0,02
7 Tagen	18,5	26,5	25,5	28,5	29	27,5	28	28,5
10 „	20	30	34	34	33,5	34,25	34,25	35,25
12 „	25	35,25	38,25	40,25	40	39,75	—	43,75
14 „	22,5	38,5	40	41,5	43,5	45	—	46,25
21 „	36	44	48	53	52	54	—	55,5
26 „	—	—	49	57,5	55	56,5	61	61

Die Zahlen beziehen sich auf die prozentuale Lichtabsorption der Kulturen (lichtelektrisches Kolorimeter nach Dr. B. LANGE).

Wie für die myzelbildenden Pilze können auch hier die Kurven entweder in Funktion der Zeit oder in Funktion der Vitaminkonzentration aufgestellt werden. Die Gesamtheit der Konzentrationskurven und

die Gesamtheit der Zeitkurven ist aus der tridimensionalen Darstellung (Abb. 25, S. 48) ersichtlich.

Gehen wir zunächst von den Zeitkurven aus, so sehen wir, daß mit suboptimalen Vitaminmengen (0,002—0,006 γ) das entsprechende

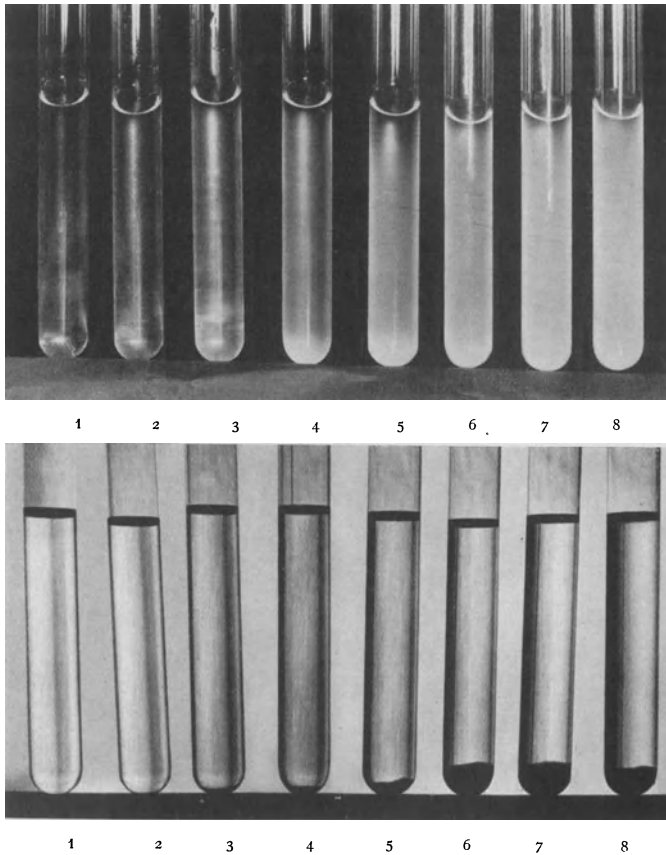


Abb. 24. Aneurinwirkung auf *Ustilago violacea*. Oben Trübung der Nährlösung, unten Bodensatz der Kulturen bei steigender Vitaminmenge. Nr. 1: 0 $m\gamma$, Nr. 2: 1 $m\gamma$, Nr. 3: 2 $m\gamma$, Nr. 4: 4 $m\gamma$, Nr. 5: 6 $m\gamma$, Nr. 6: 10 $m\gamma$, Nr. 7: 20 $m\gamma$, Nr. 8: 40 $m\gamma$ je 25 ccm Nährlösung. [Nach SCHOPFER und BLUMER (2).]

Maximum der Entwicklung schon nach wenigen Tagen erreicht wird. Von diesem Augenblicke an steigen die nephelometrischen Werte nicht mehr weiter, die Kurve verläuft horizontal. Bei höheren Vitamindosen (über 0,01 γ) dagegen beobachten wir nach dem schnellen Anstieg der Kurve keine deutliche Abflachung. Im Gegensatz zu den bei *Mucorineen* festgestellten Wachstumskurven steigen hier die nephelometrischen Werte weiter an. Dieser Gegensatz wird wohl durch die Art der Entwicklung begründet. Bei den *Mucorineen* stellt eine Kultur eine

Generation dar, das Wachstum erfolgt auf der Oberfläche der Nährlösung kontinuierlich, bis das Substrat erschöpft ist [SCHOPFER und BLUMER (2)].

Bei Sproßpilzen dagegen stellt eine Kultur die Summe zahlreicher Klonengenerationen dar, die sich auf das ganze Volumen der Flüssigkeit verteilen. Durch Anhäufung von Stoffwechselprodukten nimmt die Sprossungsintensität langsam ab, sie würde den Nullpunkt jedoch erst erreichen, wenn das Substrat in bezug auf einen Faktor erschöpft wäre, was jedoch bei optimalen Vitaminmengen während der normalen

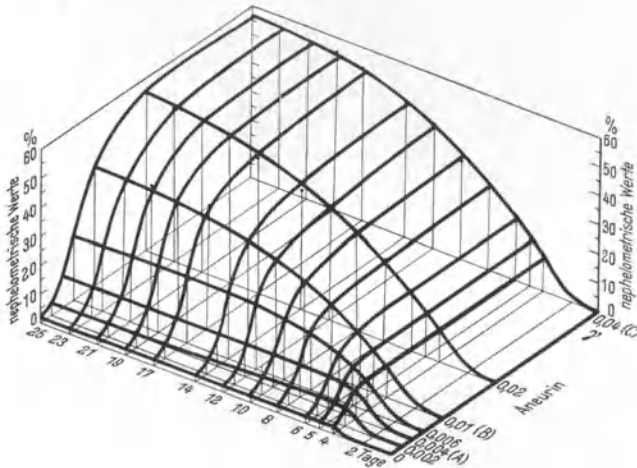


Abb. 25. *Ustilago violacea*. Wachstum in Funktion der Zeit und der Vitaminkonzentration. [Nach SCHOPFER und BLUMER (2).]

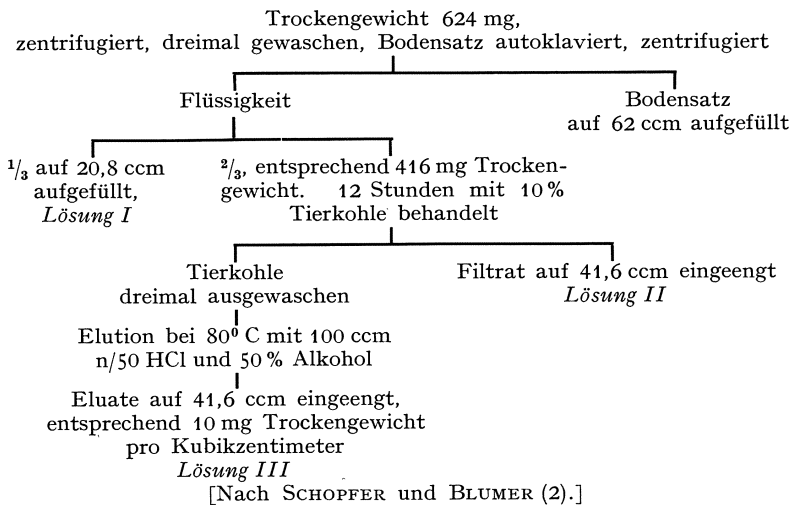
Versuchsdauer nicht eintritt. Auf diese Art läßt sich das weitere Ansteigen der Zeitkurven erklären.

Dieselbe Erscheinung zeigt sich bei den Konzentrationskurven. Auch hier ist das Optimum nicht so leicht ersichtlich wie aus den Wachstumskurven der *Mucorineen*. Wollte man also für *Ustilago* die optimale Vitaminkonzentration mit der gleichen Genauigkeit angeben, wie dies für *Phycomyces* möglich ist, so müßten verschiedene Bedingungen, wie Impfmenge, Alter des Impfmateri als, Dauer der Kultur, berücksichtigt werden. Da dies praktisch kaum durchführbar ist, muß man sich auf die Feststellung beschränken, daß *Ustilago violacea* für eine gute Entwicklung des Aneurins bedarf, daß dieser Pilz schon auf minimale Mengen dieses Vitamins reagiert, daß aber das genaue Optimum der Wirkung je nach den Umständen tiefer oder höher liegen kann. Die Kultur von *Ustilago* ist also in dieser Hinsicht bedeutend komplizierter als die von *Phycomyces*, der von den erwähnten Einflüssen weitgehend unabhängig zu sein scheint und sich deshalb besser als Test eignet.

Verschiedene andere Wachstumsfaktoren, wie Ascorbinsäure, Lactoflavin, Nicotinsäure und Inositol, haben keinen fördernden Einfluß auf die Entwicklung von *Ustilago violacea*. Eine leichte Stimulation wurde beobachtet, wenn Pantothensäure mit einer suboptimalen Dosis von Aneurin kombiniert wurde. Man darf aber vielleicht annehmen, daß diese Förderung durch Spuren von Aneurin bewirkt wird, die in der Pantothensäure vorhanden sein können.

Es war nun interessant, auch für *Ustilago violacea* die Wirksamkeit von Myzelextrakten dieser Art selbst sowie von anderen *Ustilago*-Arten und von *Mucorineen* zu untersuchen.

Es wurde die Wirksamkeit des Extraktes von *Ustilago violacea* auf diesen Pilz selbst geprüft. Zu diesem Zwecke wurden 25 *Ustilago*-Kulturen folgendermaßen behandelt:



Das Filtrat nach Tierkohlebehandlung (Lösung II) hat keine Wirkung. Das Zentrifugat (Lösung I) zeigt eine deutliche Förderung mit einem nephelometrischen Wert von 15,5%. Auch das Eluat (Lösung III) erwies sich als wirksam, wenn auch schwächer als das Zentrifugat. Mit 4 ccm dieser Lösung, die zu 25 ccm synthetischer Nährlösung beigefügt wurden, ergaben sich nephelometrische Werte von 8%, während in den Kontrollen mit 0,08 γ Aneurin 44,2% erzielt wurden. Es gelingt, aus dem Sproßmyzel von *Ustilago violacea* kleine Mengen einer wachstumsfördernden Substanz zu extrahieren, die eine neue Kultur desselben Pilzes aktiviert.

Auszüge aus *Phycomyces*-Myzelien (1 g Trockengewicht in 50 ccm Wasser) ergeben schon mit 1 ccm auf 25 ccm Nährlösung eine gute Entwicklung von *Ustilago*. Ebenso wirken gebrauchte Kulturlösungen von *Phycomyces* günstig auf *Ustilago* (s. S. 90).

Umgekehrt kann aus *Ustilago*-Extrakten eine synthetische Nährlösung für *Phycomyces* aktiviert werden (mit 8 ccm Extrakt ergab sich ein Trockengewicht von 102 mg).

Diese Kombinationen bilden einen weiteren Beweis für die Aufspeicherung der Wachstumsfaktoren und ihre Einverleibung in die lebende Materie der betreffenden Organismen. Extrakte aus tierischen Geweben, z. B. Leber, üben ebenfalls einen fördernden Einfluß auf *Ustilago violacea* aus.

Wenn auch nachgewiesen wurde, daß Aneurin, selbst in minimalsten Dosen, fördernd auf *Ustilago violacea* einwirkt, so ist damit noch nicht gesagt, daß nun die im Saponin als Verunreinigung wirkende Substanz ebenfalls Aneurin sein müßte. Es gelang weder durch den *Phycomyces*-Test noch durch den Thiochromtest, im Saponin nachweisbare Mengen von Aneurin zu finden. Dies ist jedoch, wie auch im Falle der Maltose, durchaus nebensächlich. Diese Ausgangsstoffe dienen nur als Indikatoren für die Wirkung eines Wachstumsfaktors. Die Hauptsache ist, daß man von solchen komplexen Substanzen auf irgendeinem Wege möglichst rasch zu einem chemisch genau definierten Wachstumsfaktor gelangt. Ob in den Ausgangsmaterialien noch andere wirksame Faktoren enthalten sind, bleibt dahingestellt.

c) Andere *Ustilago*-Arten in ihren Beziehungen zum Aneurin.

Wie bei den Mucorineen der Gattungen *Absidia* und *Mucor* können wir auch bei der Gattung *Ustilago* feststellen, daß das Aneurinbedürfnis nicht die Regel, sondern eher eine Ausnahme darstellt. Die meisten Arten haben die Fähigkeit der Aneurinsynthese behalten. In unserer Nährlösung entwickelten sich folgende Arten ohne Zusatz von Aneurin: *Ustilago zaeae* (schon von RANKER, VOLKONSKY und teilweise von ITZEROTT festgestellt), *U. tritici*, *U. levis*, *U. nuda* (auch von THREN beobachtet), *U. hordei*, *U. avenae* und *U. bromivora* (beide Geschlechter). Eine schwache Förderung durch Aneurin zeigte sich bei beiden Geschlechtern von *U. longissima*.

Vollständig auf Aneurin bzw. seine Komponenten angewiesen waren in unseren Versuchen nur *U. violacea* f. sp. *melandrii* und f. sp. *dianthi deltoideis* sowie *U. scabiosae*, eine in den Antheren von *Knautia* vorkommende Art.

Es sei noch erwähnt, daß Extrakte von auxo-autotrophen Arten (*U. avenae*, *U. levis*) stark fördernd auf *Ustilago violacea* einwirkten.

2. Bakterien.

Wir können hier die Bakterien ohne Rücksicht auf ihre systematische Stellung an *Ustilago* anschließen. Beide sind als einzellige Organismen zu betrachten und zeigen in ihrem kulturellen Verhalten manche Übereinstimmungen.

a) Bakterien, die das Aneurin synthetisieren.

Zahlreiche Bakterien besitzen nach älteren Angaben die Fähigkeit der Synthese des B-Vitamins, so z. B. *B. coli*, *B. smegmatis*, *B. timothy*, *B. Moelleri*, *B. adherens*, *B. subtilis*, *B. mycoides* nach SÜNDERLIN und WERKMAN wie auch nach SCHIEBLICH, *B. vulgatus*, *B. mesentericus* (2), *B. lactis aerogenes* und *Vibrio alcaligenes* (1). Gewisse Bakterien können aber in Hinsicht auf Aneurin heterotroph werden.

b) *Staphylococcus aureus*.

Am besten bekannt ist *Staphylococcus aureus*, über dessen Ernährungsphysiologie die Schule von FILDES und KNIGHT wichtige Arbeiten geliefert hat. Dieser Organismus benötigt eine komplizierte synthetische Nährlösung (s. S. 135) mit mehreren Wachstumsfaktoren. Neben Nicotinsäure und Bios ist Aneurin unentbehrlich. Bei optimaler Dosis von Nicotinsäure ($1 \cdot 10^{-5}$ M) beginnt die Entwicklung bei einer Aneurinkonzentration von $5 \cdot 10^{-10}$ M (0,0005 γ /ccm) und wird optimal mit $1 \cdot 10^{-8}$ M (0,3 γ /ccm) nach KNIGHT (3, 4).

c) Propionsäurebakterien.

Noch verwickelter sind die Verhältnisse bei den Propionsäurebakterien, die in synthetischen Nährlösungen sehr schwierig zu züchten sind. Sie benötigen einen ätherlöslichen Wachstumsfaktor, der aus wässrigen Auszügen von Hefe, Kartoffeln oder Leber gewonnen werden kann. Der Zusatz von Aminosäuren wirkt günstig. Neben dem ätherlöslichen Faktor soll das Vitamin B₁ unentbehrlich sein. Es wirkt stärker als ein Azetonextrakt von Milchpulver (*Propionibacterium pentosaceum* 11 nach TATUM, WOOD und PETERSON; WOOD und PETERSON für den ätherlöslichen Faktor).

d) *Azotobacter*.

Weniger gut ist man über die Bedeutung von Wachstumsfaktoren für *Azotobacter* informiert. WERNER gibt an, daß die Entwicklung von *Azotobacter* in der Nährlösung von BEIJERINCK durch Hefeextrakte oder durch Kochsaft von Grünalgenkulturen (*Hantzschia*, *Prasiola*, *Chlorococcum*) gefördert wird. Er nimmt an, daß das Bakterium durch diese Stoffe „Bios“ erhält. Diese Angaben bedürfen einer Bestätigung, besonders im Hinblick auf die große Bedeutung des Vanadiums und des Molybdäns für die Stickstoffversorgung dieser Bakterien [BORTELS (1, 2)].

BONNER und GREEN fanden in *Azotobacter*-Kulturen einen außerordentlich hohen Gehalt an Aneurin (140 mg pro Kilogramm der lufttrockenen Kultur, Bestimmung mit Hilfe des *Phycomyces*-Testes!). Das scheint darauf hinzuweisen, daß diese Organismen die Fähigkeit der Synthese noch in vollem Umfange besitzen und daß deshalb eine Zugabe von Aneurin zum Substrat nicht nötig sein sollte. Angesichts der großen Bedeutung dieser Bakterien im Kreislauf der organischen Materie überhaupt und im Kreislauf der Wachstumsfaktoren im besonderen wären hier weitere vertiefte Untersuchungen besonders wünschenswert.

e) *Rhizobium*.

Für *Rhizobium* ist schon lange bekannt, daß ein Zusatz pflanzlicher Extrakte zur synthetischen Nährlösung die Entwicklung begünstigt. ALLISON beobachtete, daß *R. radicicola* von *Trifolium pratense* in einer Nährlösung mit Rohrzucker als C-Quelle und Ammoniumsulfat

oder Kaliumnitrat als N-Quelle nicht wächst. Dagegen erfolgt bei Zusatz von kleinen Mengen von Extrakten aus Weizenstroh eine starke Entwicklung. BJÄLFVE und R. NILSSON konnten diese fördernde Wirkung des Strohes bestätigen.

ALLISON, HOOPER und BURK nehmen an, daß es sich dabei um die Wirkung eines Wachstumsfaktors handle. Diese Substanz wurde in mehreren Arbeiten untersucht und als Coenzym R bezeichnet. Ihre Bedeutung soll nach THORNE und Mitarbeitern (1, 2) darin bestehen, daß sie als Wasserstoffdonator funktioniert.

Dieser Faktor ist in tierischen und pflanzlichen Produkten wie auch im Boden verbreitet. Er kommt ferner als Verunreinigung gewisser Handelsprodukte der Saccharose vor, aus denen er durch Umkristallisieren des Zuckers gewonnen werden kann.

NILSSON und seine Mitarbeiter (1), die diese Untersuchungen wieder aufnahmen, stellten die günstige Wirkung eines Hefeextraktes fest¹. Der in Frage kommende Faktor ist resistent gegenüber Reduktion durch SO₂, wird dagegen durch Oxydation mit H₂O₂ zerstört. Er kann nicht durch Cystein, Glutathion oder Glycerinaldehyd ersetzt werden.

Die Auffassung von ALLISON, nach der ein Wachstumsfaktor notwendig ist, wurde bestätigt. Eine eingehendere Untersuchung zeigte aber, daß alle bekannten Faktoren, Mesoinosit, Lactoflavin, Nicotinsäure, β-Alanin und Pimelinsäure, nicht wirksam sind [NILSSON und Mitarbeiter (2)]. Der Wachstumsfaktor scheint komplexer Natur zu sein. Die stärkste Förderung wird mit einer Kombination von Aneurin und Ätherextrakt oder besser Amylalkoholextrakt der Hefe erzielt [NILSSON und Mitarbeiter (3)].

Die merkwürdigste Tatsache ist aber, daß Aneurin hier nicht in erster Linie auf die Zellvermehrung, sondern auf die Größe der Zellen wirkt.

Es treten große, den Bakterioiden ähnliche Formen auf, wodurch der Trübungsgrad erhöht wird. Der ätherlösliche Faktor bedarf noch weiterer Untersuchung (Abb. 26, S. 53).

Es scheint indessen ein Widerspruch zwischen diesen Untersuchungen und den kürzlich publizierten Ergebnissen von WEST und WILSON (1, 2) zu bestehen. Mit Hilfe des *Staphylococcus*-Testes glauben diese Autoren, Aneurin in den Zellen von *Rhizobium trifolii* nachweisen zu können. Das würde dafür sprechen, daß dieses Bakterium zur Synthese des B-Vitamins befähigt wäre. Der Test ist aber nicht spezifisch, da *Staphylococcus* auch auf Biotin reagiert. Es geht aus dieser Arbeit nicht eindeutig hervor, daß die Wirkung auf das Wachstum von *Staphylococcus* nur auf Aneurin zurückzuführen ist. Übrigens muß darauf hingewiesen werden, daß in den Untersuchungen von WEST und WILSON das Vitamin nur

¹ Synthetische Nährlösung: Rohrzucker (Merck, reinst für Injektionen) 10 g, KNO₃ 1,44 g, K₂HPO₄ 0,7 g, KH₂PO₄ 0,3 g, NaCl 0,2 g, MgSO₄·7H₂O 0,2 g, CaSO₄·2H₂O 0,1 g, Fe₂(SO₄)₃·9H₂O 0,01 g, H₂O dest. 1000 ccm.

dann aktivierend wirkte, wenn die Bakterien vorher von dem in ihnen enthaltenen Aneurin befreit worden waren!

Auf alle Fälle scheint nach den Untersuchungen von NILSSON das Aneurin auf *Rhizobium* anders zu wirken als auf die übrigen Mikroorganismen. Da durch das Aneurin das Volumen der Zelle vergrößert wird, muß es wohl auch auf die Assimilation fördernd einwirken. Man kann dieses Vitamin hier als „Zuwachsfaktor“ bezeichnen.

W. H. MÜLLER (Straßburg) beobachtete 1938 eine Stimulation der Zellteilung von *Sarcina flava* und *S. aurantiaca* durch Aneurin.

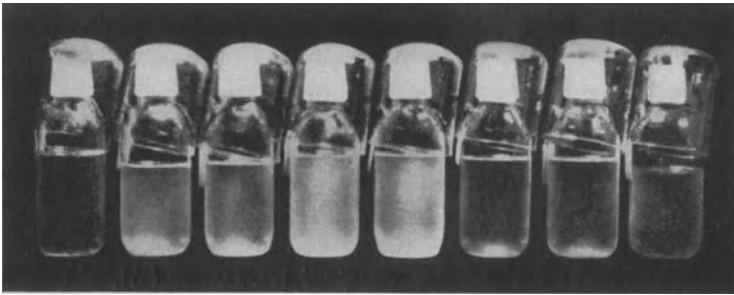


Abb. 26. Wachstum von *Rhizobium radicum*. I Nährlösung allein, II Nährlösung mit B_1 , V Nährlösung mit Amylalkoholextrakt aus Hefe, VI Nährlösung mit Amylalkoholextrakt und B_1 .
[Nach NILSSON, BJÄLFVE und BURSTRÖM (3).]

Die bisherigen Beobachtungen über die Bedeutung des Aneurins für die Bakterien sind leider noch recht lückenhaft.

3. Hefen.

Diese Organismen werden im Kapitel über Bios besprochen. Es sei hier immerhin erwähnt, daß viele Arten das B_1 -Vitamin reichlich synthetisieren. Eine *Saccharomyces cerevisiae*-Sippe kann während $1\frac{1}{2}$ Jahren in einer aneurinfreien, künstlichen Nährlösung kultiviert werden, ohne ihr Synthesevermögen einzubüßen (LASSEN). Unter den roten Hefen (*Torula*) sind Arten bekannt, die auf Aneurin oder dessen Bestandteile angewiesen sind (s. S. 70).

Torula utilis (Zuckerhefe) soll nach SCHEUNERT und SCHIEBLICH (2) Aneurin in genügender Menge synthetisieren (ein Zehntel des B_1 -Gehaltes einer guten Biertrockenhefe). Diese *Torula* wurde auf Melasse kultiviert. Wenn auch nur eine Spur von Aneurin in diesem Substrat vorhanden ist, so müßte man eher an eine Aufspeicherung aus dem Substrat als an eine Synthese denken. *Torula rosea* synthetisiert ebenfalls Aneurin (SÜNDERLIN und WERKMAN).

Für gewisse Rassen von *Saccharomyces cerevisiae* ist Aneurin als Cofaktor wirksam.

4. Protozoen.

a) Flagellaten.

Polytomella caeca, ein chlorophyllfreier Flagellate (Leukophyt), kann nur in Gegenwart komplexer Substanzen wie Peptonen oder Humusdekokten gezüchtet werden [LWOFF und DUSI (2)]. PRINGSHEIM vertrat die Ansicht, daß den Humusstoffen eine fördernde Wirkung zukomme. LWOFF und DUSI fanden, daß in geeigneten Nährlösungen das Aneurin als Wachstumsfaktor wirkt. Die Huminsubstanzen kommen mehr als Stickstoffquelle in Betracht.

In synthetischen Nährlösungen¹ ohne Wachstumsfaktoren enthalten die Kulturen nach 3 Tagen, bei 20°, nur 14 Flagellaten pro Kubikzentimeter. Mit Zugabe von Aneurin kann diese Zahl auf 700 erhöht werden. Das Vitamin B₁ wirkt hier noch in einer Verdünnung N. 10⁻⁹ sehr stark.

LWOFF führte seine Versuche mit Asparagin als Stickstoffquelle aus. Wurden Asparagin und Natriumazetat durch Ammoniumazetat ersetzt, so entwickelten sich die Kulturen auch in Gegenwart von Aneurin nicht. Es wurde deshalb vermutet, daß das natürliche, nicht gereinigte Asparagin andere Wachstumsfaktoren, vielleicht Biotin, enthalte.

Ebenso braucht *Strigomonas oncopelti* [M. LWOFF (3)], ein zu den Trypanosomen gehörender Flagellate, in einer Nährlösung mit Seidepepton Aneurin. Dieses Pepton, das durch Abbau des Sericins mit Kalk gewonnen wird, ist sehr arm an Aneurin. Die Wirkung des Vitamins ist noch in Verdünnungen von 1 : 1 Milliarde deutlich. Dagegen ist in Kulturlösungen mit gewöhnlichem Pepton die Entwicklung ohne Zugabe von Aneurin möglich. (Dieser Trypanosome vermag die Synthese des Hämatins auszuführen.)

b) Ciliaten.

Glaucoma piriiformis vermehrt sich in natürlichen Substraten mit Eiweiß oder Peptonen leicht. Dagegen entwickelt sich diese Art auf Seidepepton nur in Gegenwart von Aneurin [A. und M. LWOFF (3)].

Strigomonas oncopelti und *Glaucoma piriiformis* vermögen sich in Seidepepton nicht zu vermehren, wohl aber *Polytomella caeca*. Seidepepton enthält die beiden Komponenten des Aneurins, die für *Polytomella* das Aneurinmolekül ersetzen können, nicht aber für *Glaucoma* (s. S. 66).

C. Mehrzellige Organismen.

1. Autobasidiomyceten. Polyporaceen.

Durch die Untersuchungen von FRIES sind wir heute über den Aneurinbedarf einiger dieser Pilze gut unterrichtet.

¹ Synthetische Nährlösung für Leukophyten: NH₄-Azetat 1 g, KH₂PO₄ 0,2 g, MgSO₄ 0,1 g, KCl 0,1 g, p_H 6,5 oder 7,5 (mit NaOH), CaCl₂ 1 auf 100000, Eisenzitrat 1 auf 100000 bis 1 auf 10000000.

Der fördernde Einfluß ungereinigter Substanzen auf das Wachstum höherer Pilze wurde schon mehrfach nachgewiesen. MOUNCE stellte die günstige Wirkung eines Zusatzes von Pepton zur synthetischen Nährlösung für *Fomes pinicola* fest. ZELLER, SCHMITZ und DUGGAR (Literatur in FRIES) untersuchten 12 holzzerstörende Pilze und zeigten, daß mehrere Arten im Blutungssaft des Ahorns am besten gedeihen.

a) Bakterienkulturen als Wirkstoffquellen.

Der Ausgangspunkt für die systematischen Untersuchungen über die auf *Polyporaceen* wirksamen Wachstumsfaktoren war nicht irgendeine unreine Substanz, sondern hier ging man von Begleitbakterien aus, welche als Lieferanten von Wachstumsfaktoren in Frage kamen. SCHMITZ beobachtete schon 1919 an holzzerstörenden Pilzen eine starke Förderung der Entwicklung durch saprophytische Bakterien. FRIES isolierte verschiedene Stämme solcher holzbewohnenden Bakterien und züchtete sie auf geeigneten, natürlichen und synthetischen Substraten. Er konnte in synthetischen Nährlösungen¹ bei den holzzerstörenden Pilzen eine Wachstumsförderung durch diese Bakterien feststellen.

FRIES gewann seine *Polyporaceen*-Kulturen meistens von freilebenden Formen, indem er Reinkulturen aus dem Fruchtkörpergewebe oder aus dem dikaryotischen Schnallenmyzel herstellte. Dieses letztere wurde aus haploiden Myzelien bekannter Herkunft erhalten. War dieses nicht möglich, so wurde eine dichte Aussaat von Sporen aus wild gewachsenen Fruchtkörpern vorgenommen. Daraus erhielt FRIES seine „Dichtsaaemyzelien“, die zur Impfung verwendet wurden. Diese erfolgte durch kleine Agarstücke, welche von Myzel durchwachsen waren. Damit werden natürlich etwas andere Bedingungen geschaffen, als wenn die Impfung mit Sporen erfolgt, wie dies bei den Mucorineen ausschließlich der Fall ist. Die Entwicklung einer Kultur wurde in Nährlösungen durch das Trockengewicht des Myzels, auf festen Nährböden durch Bestimmung des Durchmessers einer Kolonie gemessen. Die Bakterienkulturen wurden samt den Bakterien entweder im Autoklav bei 120° oder besser durch Ultrafiltration (SEITZ-CHAMBERLAND- oder BERKEFELD-Filter) sterilisiert. Durch die Hitzesterilisation werden allerdings Substanzen zerstört, die für die Entwicklung des Pilzes hemmend wirken können, aber die Lösung wird damit tiefgreifend verändert. Das ist bei der Kaltsterilisation durch Filtration nicht der Fall. Da diese Ultrafiltrate sehr günstig wirkten, wurden in erster Linie solche angewendet.

¹ Synthetische Nährlösungen: 1. Glukose 10 g, NH_4NO_3 1 g, KH_2PO_4 1 g, KCl 0,5 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,5 g, FeCl_3 (1 %ige Lösung) 10 Tropfen, H_2O dest. 1000 ccm, pH nach Autoklavieren 4,6. 2. Glukose 20 g, NH_4 -Tartrat 5 g, KH_2PO_4 0,5 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,5 g, FeCl_3 (1 %ige Lösung) 10 Tropfen, H_2O dest. 1000 ccm, pH nach Autoklavieren 5,6. 3. Glukose 20 g, NH_4 -Tartrat 5 g, NH_4NO_3 1 g, KH_2PO_4 1 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,5 g, NaCl 0,1 g, CaCl_2 0,1 g, FeCl_3 (1 %ige Lösung) 10 Tropfen, H_2O dest. 1000 ccm, pH nach Autoklavieren 5,6.

Die Pilze wurden in optimalen Nährlösungen, deren Zusammensetzung und p_H sorgfältig den Anforderungen des Pilzes angepaßt wurde, gezüchtet. Diesen Kulturen wurden abgestufte Mengen der Bakterienkulturen oder ihrer Ultrafiltrate beigelegt. Es muß erwähnt werden, daß in der Natur, im zersetzten Holz, kaum mehr als 10 Millionen Bakterien pro Kubikzentimeter vorhanden sind. In den offenbar sehr günstigen Nährlösungen erhöht sich ihre Zahl auf mehrere Milliarden pro Kubikzentimeter.

Die ersten Versuche mit Zusatz von abgestuften Mengen der Bakterienkulturen zeigten, daß ihre Wirkung auf die Entwicklung der Pilze

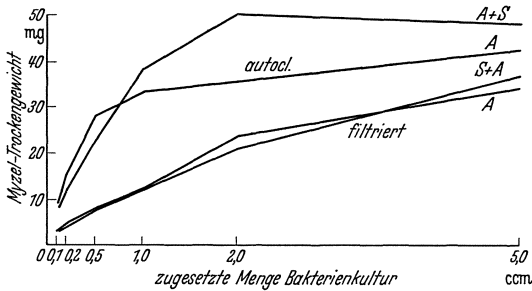


Abb. 27. Einfluß verschieden großer Zusätze sterilisierter Kulturflüssigkeit von Bakterien, Stamm C auf das Wachstum von *Polyporus adustus*. A Zusatz autoklaviert, S Seitz-filtriert, S + A zuerst Seitz-filtriert, dann autoklaviert, A + S umgekehrt. (Nach FRIES.)

adustus, die wohl auf eine Befreiung der in den Bakterienzellen enthaltenen Wachstumsfaktoren zurückzuführen ist. Man muß deshalb die Filtration als die geeignetere Methode betrachten, da hier nur die in der Nährlösung vorhandenen Wachstumsfaktoren der Bakterien wirken, wie dies wohl auch in der Natur der Fall ist.

Die mit Bakteriennährlösungen erhaltenen Ergebnisse wurden auch durch die Bestimmungen des Zuwachses auf festen Nährböden bestätigt (s. Abb. 27). Mit dem Bakterienstamm C erhielt FRIES eine sehr starke Entwicklung von *Polyporus abietinus* und *P. adustus*, wie aus der folgenden Zusammenstellung hervorgeht:

Tabelle 8. Aneurinwirkung auf *Polyporus abietinus* und *P. adustus* in Funktion der Zeit. (Nach FRIES.)

	Wachstum in mg nach Tagen											
	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60
<i>Polyporus abietinus</i> . . .	0,2	4	12,6	44,2	72,4	73	71,3	87,9	123,6	126	135,1	127,1
<i>Polyporus adustus</i> . . .	1,5	22,9	51,8	58,9	66,7	85,4	103,2	100,2	87,5			

Zusatz von 1 ccm des Bakterienfiltrates der synthetischen Nährlösung.

quantitativ ist. Sie läßt sich also ohne weiteres mit der Förderung von *Phycomyces* durch Maltose KAHLBAUM oder mit der Wirkung der Handelssaponine auf *Ustilago violacea* vergleichen (Abb. 27).

Werden die Bakterienkulturen vor der Filtration autoklaviert, so ergibt sich eine stärkere Förderung von *Polyporus*

Wenn bei *Polyporus adustus* das Maximum nach 45 Tagen erreicht ist, so tritt sofort Autolyse auf. Diese macht sich in der Abnahme des Trockengewichtes geltend, welche auch durch erneute Zugabe von Wachstumsfaktoren (Filtrat) nicht aufgehoben werden kann. Versuche mit suboptimalen Dosen des Filtrates in Funktion der Zeit zeigten, daß es als begrenzender Faktor wirkt.

Aus diesen Versuchen scheint klar hervorzugehen, daß die verwendeten Bakterien einen oder mehrere noch unbekannte Wachstumsfaktoren zu synthetisieren vermögen.

Es wurden folgende Pilze untersucht: *Daedalea unicolor* BULL. ex FR., *Fomes pinicola* (SW.) COOKE, *Lenzites sepiaria* (WULF. ex FR.), *Merulius lacrymans* SCHUM. ex FR., *Polyporus abietinus* DICKS. ex FR., *Polyporus adustus* WILLD. ex FR., *Polyporus amorphus* FR., *Polyporus annosus* FR., *Polyporus benzoinus* WG. ex FR., *Polyporus fomentarius* L. ex FR., *Polyporus zonatus* NEES ex FR., *Trametes cinnabarina* (JACQ. ex FR.) FR., *Trametes serialis* FR. Verschiedene Nährlösungen mit Ammoniumnitrat oder Pepton als Stickstoffquelle wurden verwendet.

Die Annahme einer Wirkung von Wachstumsfaktoren wird durch die Tatsache bestätigt, daß *Polyporus* in synthetischen Nährlösungen nur schlecht gedeiht. Auch die Metalle Cu, Zn, Mn und Ca üben auf *Polyporus adustus* keine besondere fördernde Wirkung aus. Nur auf unausgewaschenem Agar ergibt sich ein besseres Wachstum; durch das Auswaschen werden die Erntegewichte herabgesetzt. Wir wissen von Untersuchungen an anderen Organismen, daß der Agar Wachstumsfaktoren enthält.

b) Wirkung des Aneurins.

Der vermutete Wachstumsfaktor kann auf folgende Weise charakterisiert werden: Thermostabil, filtrierbar, unlöslich in Äther, löslich in Wasser und Alkohol (in 96% Alkohol ist die Löslichkeit geringer als in 88%). Der Wachstumsfaktor ist in Malzextrakt und besonders in der

Tabelle 9. Einfluß verschiedener Konzentrationen von Aneurin und Hefeextrakt auf das Wachstum von *Polyporus adustus* (25 ccm Nährlösung). (Nach KÖGL und FRIES 1937.)

Zusatz pro Kolben	Verdünnung	Myzeltrockengewicht in mg
Kontrollen		0,5 ± 0,0
Aneurin 0,0001 γ	1 : 250000000000	1,1 ± 0,0
0,001	1 : 25000000000	2,8 ± 0,3
0,01	1 : 2500000000	6,5 ± 0,6
0,1	1 : 250000000	20 ± 0,8
1	1 : 25000000	19,8 ± 0,4
Hefeextrakt 10 γ	1 : 2500000	2,3 ± 0,1
100	1 : 250000	8,6 ± 0,3
1000	1 : 25000	18,9 ± 1,1
Hefeextrakt nach Adsorption mit Tierkohle 100 γ	1 : 250000	0,9 ± 0,1
1000	1 : 25000	1,0 ± 0,0
10000	1 : 2500	1,5 ± 0,0

Hefe vorhanden. Man denkt natürlich in erster Linie an ein Vitamin aus der B-Gruppe. Diese Annahme wird auch durch den Versuch bestätigt: Aneurin ist der wichtigste, wenn nicht einzige Wachstumsfaktor, der auf *Polyporus adustus* und *P. abietinus* wirkt.

Aus dieser Zusammenstellung (Tabelle 9) geht folgendes hervor:

1. Die quantitative Wirkung des Aneurins und seine Rolle als begrenzender Faktor, wenn es in schwacher Konzentration vorhanden ist.

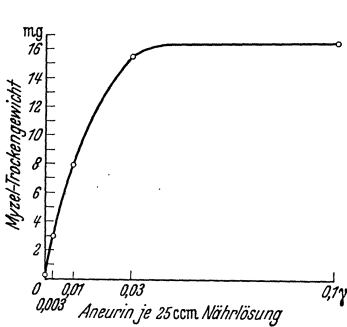


Abb. 28. Einwirkung von Aneurin in steigenden Konzentrationen auf das Wachstum von *Polyporus adustus*. (Nach KÖGL und FRIES.)

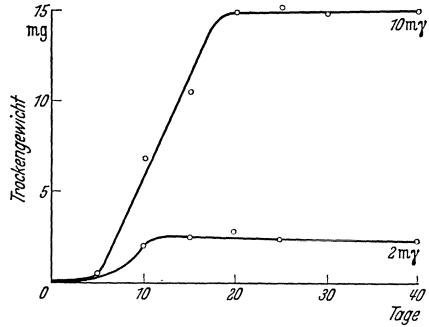


Abb. 29. Aneurinwirkung auf *Polyporus adustus* als Funktion der Zeit. (Nach FRIES.)

2. Das Hefeextrakt kann in seiner Wirkung durch Aneurin ersetzt werden. Auch mit einem Überschuß von Hefeextrakt wird kein höheres Trockengewicht erreicht als mit Aneurin.

3. Bei Behandlung mit Tierkohle wird das Hefeextrakt inaktiviert durch Adsorption des Aneurins.

Andere *Polyporaceen* verhalten sich wie *Polyporus adustus* und *Polyporus abietinus*, die besonders eingehend untersucht wurden. So z. B. *P. annosus*, *P. benzoïnus*, *Trametes serialis*, *Lenzites sepiaria*, *Daedalea unicolor*. Für alle diese Arten wirkt das Aneurin als begrenzender Faktor.

c) Vergleich der Wirkung des Aneurins mit derjenigen von Hefe- und Malzextrakten. Der Stickstoffwinkel.

Auffällig erscheint allerdings die Tatsache, daß für die *Polyporus*-Arten das Hefeextrakt vollständig durch Aneurin ersetzt werden kann, während dieses für *Lenzites sepiaria* nicht der Fall ist. Die durch Hefeextrakt bewirkte Förderung kann mit keinem der bekannten Wirkstoffe, Biotin, Inosit oder Aminosäuren (d-l-Phenylalanin, Alanin, Leucin, l-Tyrosin, d-Lysindichlorhydrat, d-Arginin, Asparagin), erreicht werden. Nach Tierkohlebehandlung verliert das Hefeextrakt seine Wirksamkeit. Man könnte fast annehmen, daß im Hefeextrakt noch andere unbekannte Wachstumsfaktoren vorhanden sind. Es ist aber durchaus möglich, daß diese Wirkung überhaupt nicht auf Wachstumsfaktoren

zurückzuführen ist, sondern daß es sich um eine Nährstoffwirkung handelt. Ähnliches haben wir oft bei *Mucorineen*, besonders bei *Phycomyces* beobachtet, die auf Hefe- und Weizenkeimextrakt viel stärker reagieren als auf reines Aneurin [SCHOPFER (3, 11)].

Diese Tatsachen haben wir bei der zahlenmäßigen Feststellung der Aneurinwirkung auf *Phycomyces* berücksichtigt [SCHOPFER und JUNG (7)]. Vergewenwärtigen wir uns die graphischen Darstellungen der Einwirkung des Stickstoffes (Asparagin), so können wir feststellen, daß eine

Erhöhung des Stickstoffgehaltes der Nährlösung die Wirksamkeit des Aneurins erhöht, ohne daß die Vitamindosis selbst dabei verändert werden muß. Diese Beziehungen, die von uns als „Stickstoffwinkel“, bezeichnet wurden, sind aus Abb. 30 klar ersichtlich. Besonders eingehend wurden Malz- und Hefeextrakte untersucht, Substanzen, welche reich sind an Vitamin, und die zugleich viel Stickstoff enthalten (dies gilt besonders für das Hefeextrakt). Es

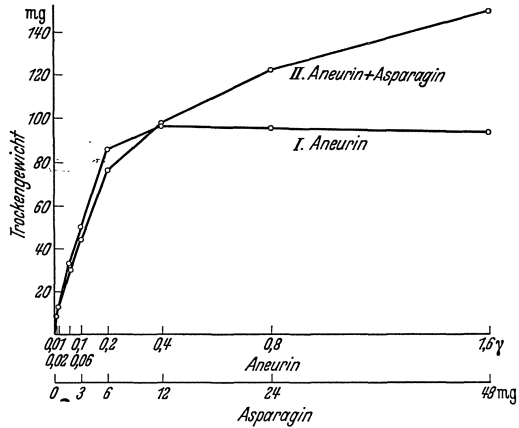


Abb. 30. Aneurin- und Stickstoffwirkung auf *Phycomyces*. I Aneurin allein, II Aneurin + Asparagin, beide in steigenden Konzentrationen. [Nach SCHOPFER und JUNG (6).]

ist deshalb als normal zu betrachten, daß solche Extrakte eine bessere Entwicklung ermöglichen als die in ihnen enthaltene Aneurinmenge allein. Durch diese Betrachtungsweise wird die stark fördernde Wirkung konzentrierter, aber unreiner Extrakte wenigstens zum Teil erklärt, ohne daß man andere Wachstumsfaktoren zu Hilfe nehmen muß. Wir bemerken jedoch ausdrücklich, daß solche nicht ausgeschlossen sind.

Diese Beobachtungen zeigen, daß es absolut notwendig ist, mit optimalen Stickstoffkonzentrationen zu arbeiten, um Kulturen zu erhalten, in denen das Maximum des Myzelgewichtes einem Optimum des Aneurins bei einer gegebenen Stickstoffmenge entspricht. Dieser Punkt wurde von FRIES in seinen Untersuchungen nicht berücksichtigt.

Auch zwei andere Basidiomyceten, *Tricholoma nudum* und *Dacryomyces stillatus* werden durch Aneurin gefördert.

2. Ascomyceten.

a) *Helvella infula*.

Helvella infula, ebenfalls von FRIES gründlich untersucht, verlangt auch Aneurin, doch ist die Entwicklung mit Hefeextrakt besser (Abb. 31, S. 60).

b) Arten, die nicht oder nicht vollständig auf Aneurin angewiesen sind.

Das Wachstum von *Penicillium notatum* ist in synthetischen Nährlösungen fast normal. Mit Zusatz von Aneurin und besonders auch von Malz- und Hefeextrakt ist eine leichte Förderung festzustellen. Dasselbe gilt in geringerem Maße auch für *Nectria coccinea*, *Sclerotinia cinerea*, *Xylaria hypoxylon*. Diese Arten gedeihen mehr oder weniger gut in synthetischen Nährlösungen, doch bewirkt ein Aneurinzusatz eine gewisse Förderung. Die Fälle, in denen das Aneurin nicht absolut

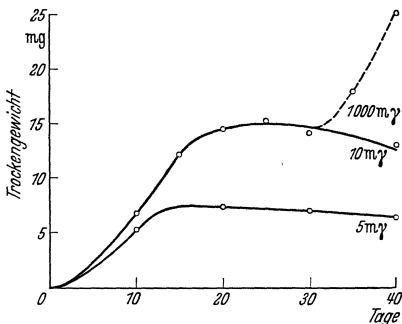


Abb. 31. Aneurinwirkung auf *Helvella infula* in synthetischer Nährlösung. (Nach FRIES.)

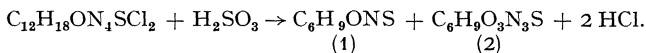
unentbehrlich ist, sollen später besprochen werden ebenso wie die Pilze, die neben Aneurin noch andere Wachstumsfaktoren benötigen.

Aus allen diesen Untersuchungen geht deutlich hervor, daß die Wirkung des Aneurins eine allgemeine ist. Sie zeigt sich in allen Gruppen der chlorophyllfreien Kryptogamen, bei den Bakterien, Phycomyceten, Ascomyceten und Basidiomyceten. Für jede Gruppe zeigt sich, daß das Aneurinbedürfnis nicht mit der allgemeinen Heterotrophie im Zusammen-

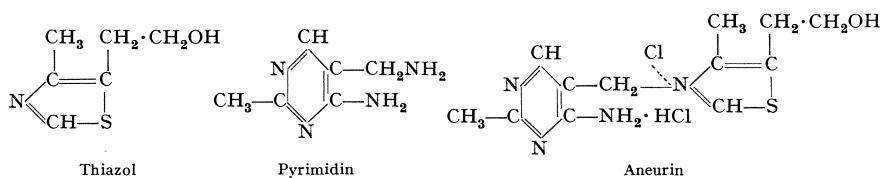
hange steht. Wir finden in jeder Gruppe Arten, die in bezug auf das Aneurin vollständig autotroph sind, neben anderen, die in dieser Beziehung vollständig heterotroph sind.

V. Die Bestandteile des Aneurins, Pyrimidin und Thiazol als Wachstumsfaktoren.

Durch die Sulfitspaltung des reinen Aneurins erhielten R. R. WILLIAMS, WATERMAN, KERESZTESY und BUCHMAN (1935) zwei Bruchstücke:



Aus dem Bruchteil 1 wurde ein Thiazol identifiziert (BUCHMAN, WILLIAMS und KERESZTESY). Die Untersuchung des Bruchteils 2 führte zu einem Pyrimidin (CLINE, WILLIAMS, RUEHLE und WATERMAN). Das Aneurin besteht also aus zwei Komponenten: Das 4-Methyl-5- β -hydroxy-äthyl-thiazol und das 2-Methyl-4-amino-5-aminomethyl-pyrimidin. Diese Spaltprodukte sind synthetisch hergestellt worden nebst einer Anzahl ihrer Substitutionsprodukte. Damit wurde die biologische Forschung, was das Aneurin anbelangt, sehr erleichtert.



A. Pyrimidin und Thiazol als Aneurinersatz für *Staphylococcus* und *Phycomyces*.

KNIGHT (3) zeigte, daß für *Staphylococcus aureus* Aneurin (in Gegenwart von Nicotinsäure) der wesentliche Wachstumsfaktor ist. Ferner machte er die wichtige Feststellung (4), daß die beiden Bestandteile des Aneurins, das Pyrimidin und das Thiazol, in äquimolekularen Konzentrationen zusammen die Wirkung des Aneurins ersetzen können. Diese Tatsache wurde für *Phycomyces* durch SCHOPFER und JUNG (5), SINCLAIR, ROBBINS und KAVANAGH (1) und für die Flagellaten durch LWOFF und DUSI (1, 2) bestätigt.

Zwischen Kulturen, die sich mit Pyrimidin und Thiazol entwickelten, und solchen, denen das ganze Aneurinmolekül zur Verfügung stand, besteht kein Unterschied. Abb. 32 zeigt 2 Kurven, die eine gibt die Entwicklung mit Aneurin allein, die andere mit Pyrimidin und Thiazol, die zusammen, gegenüber dem Aneurin, in doppelter Konzentration vorhanden sind. Die Vitamindosen auf der Abszisse sind hier logarithmisch dargestellt. Der ansteigende Teil der Kurve zeigt erwartungsgemäß, daß ein bestimmtes Myzelgewicht mit einer entsprechenden Vitamindosis erreicht werden kann und ebenso mit der um die Hälfte geringeren Dosis jeder Komponente. So kann z. B. ein Trockengewicht von 50 mg erreicht werden mit 0,4 γ Aneurin oder 0,2 γ Pyrimidin + 0,2 γ Thiazol. (Pyrimidin und Thiazol sind im Aneurinmolekül in ungefähr äquimolekularen Mengen vorhanden.)

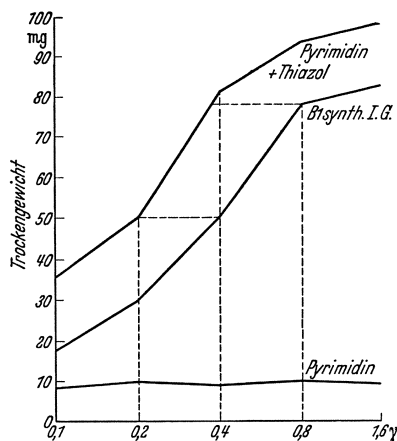


Abb. 32. Wirkung von Aneurin und Pyrimidin + Thiazol auf *Phycomyces*. — P + T sind gegenüber B₁ in doppelter Konzentration.

Es stellt sich die Frage, wie sich eine suboptimale Dosis des einen Bestandteiles, verbunden mit einer supraoptimalen Dosis des anderen, auf das Trockengewicht auswirkt. Dies kann durch einen Schachbrettversuch festgestellt werden (Tabelle 10).

Tabelle 10. Wirkung von Kombinationen verschiedener Pyrimidin- und Thiazolmengen auf *Phycomyces*.

	γ je 25 ccm	Pyrimidin							
		0	0,02	0,1	0,2	0,4	0,8	1,6	3,2
Thiazol	0	8	8	6	7	6,5	9,5	7	7
	0,02	8,5	13,5	20	19	22	20	19	18
	0,1	9,5	17,5	38,5	51	54	56	53	60
	0,2	10	22	38	65	85	85	83	83
	0,4	11	18	43	76	92	94,5	95	93
	0,8	8,5	19	49	80	91	90,5	91,5	91
	1,6	10	19,5	42,5	70	87	91	96	100
	3,2	12	19	43	79	91	92	97	95

Das Optimum liegt also zwischen 0,2—0,3 γ für jeden Bestandteil, was ungefähr einer optimalen Aneurindosis von 0,5 γ entspricht. Sobald diese Dosis einmal erreicht ist, sollte ein weiterer Zusatz von Pyrimidin und Thiazol keine Wirkung mehr haben. Bis zu diesem Optimum müßten also die Maximalwerte in einer Diagonale liegen, was allerdings in diesem Versuche nicht genau zutrifft.

Die Möglichkeit eines Ersatzes des Aneurins durch seine Komponenten wurde für verschiedene Mikroorganismen nachgewiesen. BONNER hat das gleiche für die Wurzel von *Pisum* festgestellt, so daß man annehmen darf, daß es sich um eine verbreitete Erscheinung handelt.

Es wurde ferner gezeigt, daß gewisse aneurinbedürftige Organismen in Wirklichkeit nicht das ganze Molekül benötigen. Die eine oder andere Komponente allein ergibt dieselbe Wirkung wie das ganze Aneurinmolekül.

B. *Rhodotorula rubra* — ein Pyrimidinpilz.

Diese rote Hefe (Stamm von BAARN) gedeiht in unserer synthetischen Nährlösung¹ nur schlecht. Dagegen erhält man mit Zusatz von Aneurin eine ebenso gute Entwicklung wie auf den besten natürlichen Nährböden.

¹ Synthetische Nährlösung wie für *Phycomyces* s. Fußnote S. 23.

Pantothensäure und Inosit fördern das Wachstum nicht. Die Zahl der geimpften Zellen beeinflusst wohl die Intensität der Entwicklung, aber nicht den Optimalwert der Vitaminwirkung.

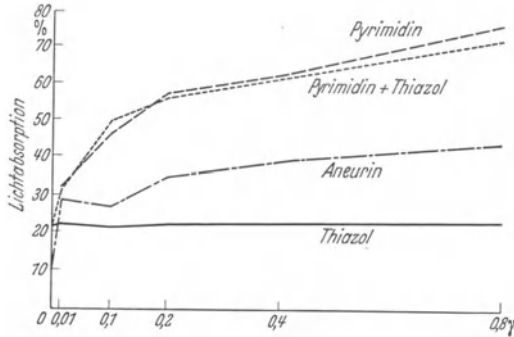


Abb. 33. Wirkung des Aneurins und seiner Komponenten auf *Rhodotorula rubra*. [Nach Tabellen in SCHOPFER (22).]

Das Thiazol allein ist hier unwirksam, dagegen kann das Aneurin quantitativ durch Pyrimidin ersetzt werden. Durch Zusatz von Thiazol zum Pyrimidin wird keine Förderung erzielt (Abb. 33, 34 und 36 B).

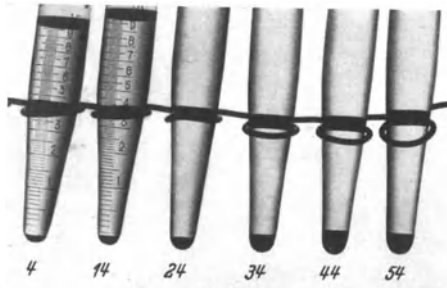


Abb. 34. Entwicklung von *Rhodotorula rubra* als Funktion der Pyrimidindosis. Zentrifugate von 25 ccm Nährlösung.

Nr.	4	14	24	34	44	54	
0	0,02	0,10	0,20	0,40	0,80 γ	Pyrimidin	
20	25	53	59	60	53 %	Lichtabsorption	
12,5	13,5	23	27,5	35	—	mg Trockensubstanz.	

Obschon die Mengen nicht genau äquimolekular sind, erscheinen die Ergebnisse sehr klar [SCHOPFER (20, 22)]. Das Optimum der Pyrimidinwirkung liegt etwa bei 0,2 γ in 25 ccm Nährlösung.

Miss COOPING hatte schon beobachtet, daß die Wirkstoffbedürfnisse der Hefen von Art zu Art sehr verschieden sind. Wachstumsfaktoren sind besonders für die domestizierten, durch die Kultur degenerierten Hefen, z. B. *Saccharomyces cerevisiae*, unentbehrlich. Die *Rhodotorula*-Arten scheinen von Bios unabhängig zu sein, da sie diese Substanzen selber zu synthetisieren vermögen. Trotzdem entwickeln sie sich in synthetischen Nährlösungen nur schwach.

GROMAKOWSKI stellte dies für *Torula nigra* und *Torula glutinis* fest. Dies ist hier auf den Mangel von Aneurin oder Pyrimidin zurückzuführen. Unsere Ergebnisse wurden von FROMAGEOT und TCHANG (1, 2) an *Rhodotorula sanniei* und von ROBBINS und KAVANAGH (2) für andere Arten bestätigt. Immerhin sind innerhalb der Gattung verschiedene Typen vorhanden, die auf Aneurin (ganzes Molekül) oder seine Komponenten angewiesen sind (s. Tabelle 11, S. 68).

Die Wirksamkeit des Pyrimidins wurde auch für einige Mucorineen (*Absidia ramosa*, *Parasitella simplex*, *Pilaira anomala*), für *Dematium nigrum* [SCHOPFER (22)], für *Phytophthora jagopyri* sowie für *Pythium Bulleri*, *P. polycladon*, *Sclerotium delphinii*, *S. Rolfsii*, *Sphaerulina trifolii* und *Schizophyllum commune* [ROBBINS und KAVANAGH (6)] festgestellt.

HAHN beobachtete eine fördernde Wirkung von Filtrierpapier, das den Nährlösungen beigefügt und mit ihnen sterilisiert wurde, auf verschiedene *Torula*-Arten (*Torula rubra*, *T. rubescens* und eine rote Hefe des Institut Pasteur). Diese Wirkung konnte mit unseren Stämmen von *Rhodotorula* und *Dematium* bestätigt werden. Sie läßt sich wahrscheinlich teilweise durch die Anwesenheit von Wachstumsfaktoren in diesem Material erklären.

Für *Dematium pullulans* wurde von BOAS und BAUER nachgewiesen, daß dieser Pilz auf konzentrierte Auszüge von Kamille und Mistel noch in Verdünnungen von 1:1000000000 bzw. 1:200000000 reagiert. Es ist möglich, daß es sich dabei um eine Wirkung des Aneurins oder des Pyrimidins handeln könnte.

C. *Mucor Ramannianus* — ein Thiazolpilz.

Diese kleinste Mucorinee kommt ausschließlich im Boden, namentlich in Nadelwäldern vor, ohne aber eine Mykorrhiza zu bilden [MELIN, W. F. MÜLLER (1, 2)]. Der Pilz wächst in synthetischen Nährlösungen¹ nicht. Wir haben ihn (6) unter die aneurinbedürftigen Organismen eingereiht.

Verschiedene Extrakte, z. B. Hefe, Malz, Weizenkeim, bedingen ein gutes Wachstum. Schon der Chloroformauszug dieser Stoffe bewirkt eine deutliche Förderung. Nun ist bekannt, daß Thiazol in Chloroform löslich ist, im Gegensatz zum Aneurin. Es konnte tatsächlich gezeigt werden, daß Thiazol allein eine gleich gute Entwicklung bedingt wie Aneurin (W. F. MÜLLER und SCHOPFER).

In seinen bekannten Untersuchungen über die Mykorrhiza fand MELIN, daß Dialysate von *Pinus*-Samen, die der synthetischen Nährlösung beigefügt wurden, das Wachstum förderten. Er führte diese Wirkung auf Phosphatide zurück, die aus den Samen heraus diffundieren [HANSTEEN-CRANNER (1, 2)]. Da aber die Samen sehr reich an Aneurin sind, das ebenfalls herausdiffundiert, ist es nach unserer Ansicht nicht nötig, Stoffe zu Hilfe zu nehmen, die nicht in chemisch reinem Zustande dargestellt und verwendet werden können, was MELIN und

¹ Synthetische Nährlösung wie für *Phycomyces* siehe Fußnote S. 23.

LINDENBERG (1939) übrigens jetzt auch anerkennen, indem sie zeigen, daß Aneurin neben anderen Wirkstoffen, für die Entwicklung einiger *Mykorrhiza*-Pilze notwendig ist. Damit wird die schon lange Liste der Aneurinpilze noch weiter ergänzt.

Pyrimidin allein ist auf diesen Pilz (nach W. F. MÜLLER, unveröffentlicht, 1938) unwirksam und verändert auch die Wirkung des Thiazols nicht. Die

in der Abb. 35 und 36 A berücksichtigten Mengen von Thiazol sind genau äquimolekular zum Aneurin, das unwirksame Pyrimidin ist in doppelter Konzentration vorhanden. Man ersieht aus dieser Abbildung, daß mit Thiazol zwar ein etwas schwächeres Wachstum erreicht wurde als mit Aneurin. Allerdings wurde dieser Versuch zu früh abgebrochen. Man könnte sich diese Erscheinungen auch folgendermaßen erklären: Der Pilz vermag das Thiazol nicht zu synthetisieren, wohl aber das Pyrimidin. Wird ihm dieses jedoch in der Nährlösung geboten, so braucht er die Synthese des Pyrimidins nicht selber auszuführen. Es würde somit bei Zugabe von Pyrimidin plus Thiazol oder Aneurin für den Pilz eine Synthese erspart, und er könnte sich deshalb rascher entwickeln als bei Zugabe von Thiazol allein (s. S. 93, Biosynthese des Aneurins).

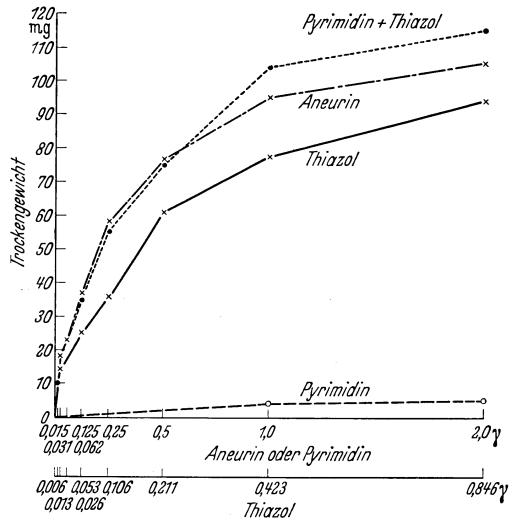


Abb. 35. Wirkung des Aneurins und seiner Komponenten auf *Mucor Ramannianus*. Thiazol und Aneurin sind in äquimolekularen Mengen vorhanden. (Nach W. F. MÜLLER 1938, unveröffentlicht.)

Daneben gibt es aber auch einige Organismen, die das ganze Aneurinmolekül verlangen. Dieses kann durch das Gemisch von Pyrimidin und Thiazol nicht ersetzt werden.

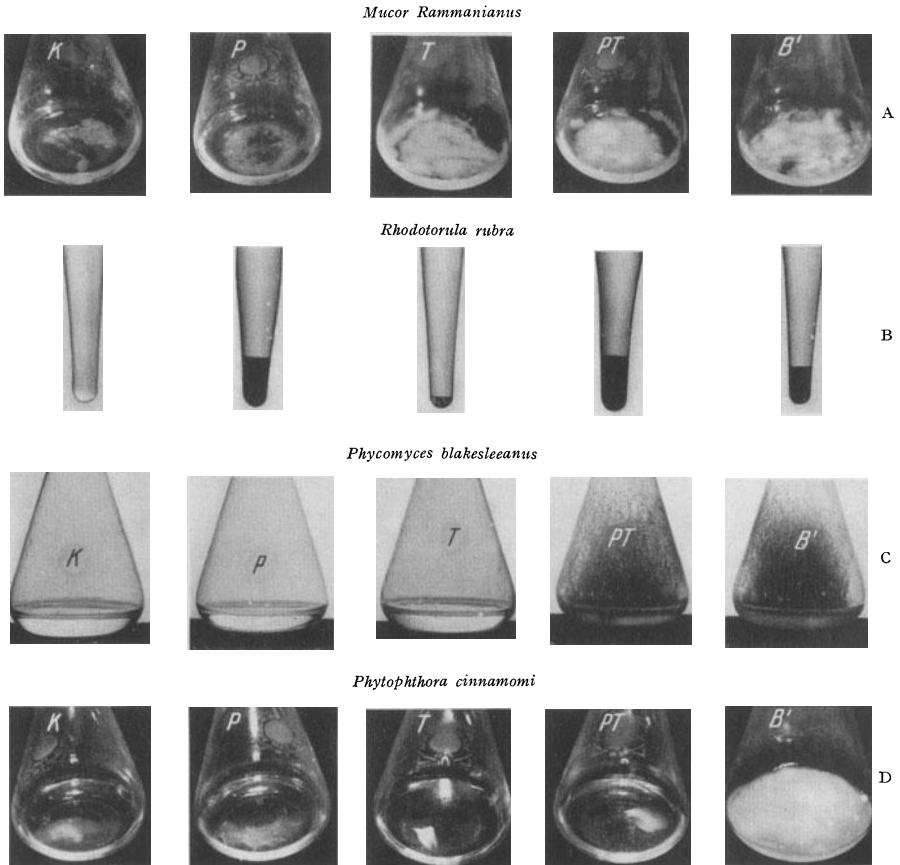
Diese mehrfach an verschiedenen Organismen bestätigten Beobachtungen haben eine vollständige Revision aller Angaben über den Einfluß des Aneurins auf Mikroorganismen notwendig gemacht.

D. Gruppierung der Organismen nach ihrem Verhalten gegenüber dem Aneurin und seinen Bestandteilen.

Nach ihren Anforderungen können die in der allgemeinen Zusammenstellung aufgeführten Arten unter 4 oder 5 Grundtypen eingeordnet werden. Die Gruppen werden nach dem Organismus bezeichnet, bei dem dieses Verhalten zuerst beobachtet wurde (Abb. 36, S. 66).

1. Der Typus von *Glaucoma piriformis* und *Phytophthora cinnamomi*.

Organismen, die das ganze Aneurinmolekül benötigen. Die Mischung der beiden Komponenten genügt nicht. Von den Protozoen gehören außerdem



Kontrolle Pyrimidin Thiazol Pyrimid. + Thiazol Aneurin
 Abb. 36. Wirkung des Aneurins und seiner Komponenten. A *Mucor Rammanianus*, ein Thiazolpilz, B *Rhodotorula rubra*, ein Pyrimidinpilz, C *Phycomyces blakesleanus*, ein P.T.-Pilz, D *Phytophthora cinnamomi*, ein Aneurinpilz. (A nach MÜLLER, unveröffentlicht, B, C, D nach SCHOPFER, unveröffentlicht.)

Strigomonas oncopelti [M. LWOFF (3, 5)] und andere Arten zu diesem Typus; ferner die Phycomyceten: *Phytophthora cambivora*, *P. cactorum*, *P. parasitica*, *P. palmivora*, *P. Boehmeriae*, *P. capsici*, *P. Drechsleri*, *P. cryptogea*, *P. cinnamomi*, *P. citrophthora* [ROBBINS (2)] (Abb. 36 D).

2. Der Typus von *Phycomyces* und *Staphylococcus aureus*.

Organismen, die entweder Aneurin oder das Gemisch von Pyrimidin und Thiazol in äquimolaren Mengen benötigen. Von den Mucorineen gehört außer *Phycomyces blakesleanus* auch *P. nitens* sowie *Pilaira*

Moreaui hierher, von den Basidiomyceten *Ustilago violacea* und *Ustilago scabiosae*, ferner *Torula Laurentii* [ROBBINS und KAVANAGH (2)], *Polytomella caeca* [LWOFF und DUSI (2)], *Chilomonas paramaesium* [LWOFF und DUSI (3, 5)] (Abb. 36 C).

3. Der Typus von *Rhodotorula rubra*.

Organismen, die sich mit Pyrimidin allein entwickeln. Von den Phycomyceten gehören hierher: *Pythium polycladon*, *P. Bulleri*, *Phytophthora jagopyri* [ROBBINS und KAVANAGH (6)], *Absidia ramosa*, *Parasitella simplex* und *Pilaira anomala* [SCHOPFER (22)]. Ferner die Imperfekten *Rhodotorula rubra*, *R. sanguinea*, *R. mucilaginoso* und *Dematium nigrum* [SCHOPFER (22)] (Abb. 36 B).

4. Der Typus von *Absidia ramosa* und *Parasitella simplex*.

Eigentümlicherweise scheint bei diesen Mucorineen, die mehr oder weniger stark auf Pyrimidin allein reagieren, diese Vitaminkomponente auch in starken Dosen doch das Aneurin oder die Mischung P + T nicht vollständig ersetzen zu können [SCHOPFER (22, 23)].

Mit Pyrimidin bildet *Absidia ramosa* etwa $\frac{1}{10}$ und *Parasitella simplex* etwa $\frac{3}{4}$ der Trockensubstanz, die mit Aneurin oder P+T erzielt werden kann (s. S. 91).

5. Der Typus von *Mucor Ramannianus*.

Organismen, die sich mit Thiazol allein entwickeln. Außer dieser Mucorinee gehören folgende Protozoen hierher: *Polytoma caudatum* [LWOFF und DUSI (3)], *P. ocellatum* [LWOFF und DUSI (4)] (Abb. 36 A).

Eine Anzahl von Organismen, für die festgestellt ist, daß sie des Aneurins bedürfen, müssen hinsichtlich ihres Verhaltens gegenüber Pyrimidin und Thiazol noch untersucht werden.

Theoretisch haben wir nur diese 4 Gruppen, in Wirklichkeit gibt es aber einige Pilze, die sich nicht ohne weiteres in dieses Schema einordnen lassen. Man dürfte eigentlich erwarten, daß für einen Organismus, der mit der einen Komponente des Aneurins auskommt, die Mischung beider Komponenten nicht günstiger wirken würde. Es besteht aber die Möglichkeit, daß ein Organismus durch die eine Aneurinkomponente allein in verschiedenem Maße gefördert werden kann. Man muß in diesem Falle an einen teilweisen Syntheseverlust in bezug auf die andere Komponente denken (s. 91).

Die Interpretation der Beobachtungen verschiedener Autoren stößt auf gewisse Schwierigkeiten, da oft weder das Trockengewicht der Ernte noch Kurven oder die optimale Dosis angegeben wird. Eine halb quantitative Schätzung (+, ++, ...) reicht hier nicht aus.

Wir haben deshalb nur für wenige Mikroorganismen genaue, zahlenmäßige Angaben über die Wirkung des Aneurins oder seiner Komponenten (vgl. Tabelle 11). Die Zeichen +, ++, ... haben nur einen relativen Wert für die betreffende Art. Sie erlauben aber keinen quantitativen Vergleich zwischen den Arten unter sich.

Tabelle 11. Wirkung des Aneurins und seiner Bestandteile auf die bis jetzt untersuchten Mikroorganismen.

Organismen	Kontr.	Pyrimid.	Thiazol	Pyrimid. + Thiaz.	Aneurin
Bacteriae					
<i>Propionibacterium pentosaceum</i> T.	—	△	—	+++	+++ ¹
<i>Staphylococcus aureus</i> K.	—	—	—	+++	+++ ²
Fungi					
Phycomycetes					
<i>Oomycetes</i>					
Peronosporaceae:					
<i>Pythium polycladon</i> SIDERIS. RK.	—+	+++	—+	+++	
<i>Pythium Butleri</i> SUBRAM. RK.	—+	+++	—+	+++	
<i>Pythium scleroteichum</i> RK.	+++	+++	+++	+++	
<i>Pythium arrhenomanes</i> DRECHS. . . . RK.	—+	?			+++
<i>Phytophthora fagopyri</i> TAKIMOTO . . RK.	—	+++	—+	+++	
<i>Phytophthora cambivora</i> (PETRI)BUISMANRK.	—+	—+	—+	—+	++
<i>Phytophthora cactorum</i> (LEB. et COHN) SCHRÖT. RK.	—+	—+	—+	—+	++
<i>Phytophthora parasitica</i> DASTUR . . . RK.	—	—	—	—	++
<i>Phytophthora palmivora</i> BUTLER . . . RK.	—	—	—	—	++
<i>Phytophthora Boehmeriae</i> SAW. . . . RK.	—	—	—	—	++
<i>Phytophthora capsici</i> LEONIAN RK.	—+	—+	—+	—+	++
<i>Phytophthora Drechsleri</i> TUCKER . . . RK.	—+	—+	—+	—+	+++
<i>Phytophthora cryptogea</i> PETHYBR. . . RK.	—	—	—	—	+++
<i>Phytophthora cinnamomi</i> RANDS. . . . RK.	—+	—+	—+	—+	+++
<i>Phytophthora citrophthora</i> (SM. et SM.) LEONIAN RK.					nicht gewogen
<i>Zygomycetes</i>					
Mucoraceae:					
<i>Mucor hiemalis</i> WEHMER * S.	+++	+++	+++	+++	+++
<i>Mucor mucedo</i> BREF. * S.	+++	+++	+++	+++	+++
<i>Mucor griseo-lilacinus</i> POVAH. RK.	+++				+++
<i>Mucor circinelloides</i> v. THIEG. RK.	+++				+++
<i>Mucor Ramannianus</i> MOELLER MS.	—	—	+++	+++	+++
<i>Phycomyces blakesleeanus</i> BGF. * S., RK.	—	—	—	+++	+++
<i>Phycomyces nitens</i> (KUNZE) * v. THIEG. et LE MONNIER S., RK.	—	—	—	+++	+++
<i>Zygorhynchus Dangeardi</i> MOREAU . . . S.	+++				+++
<i>Zygorhynchus Moelleri</i> VUILL. S.	+++				+++
<i>Circinella aspera</i> LENDNER RK.	+++				+++
<i>Sporodinia grandis</i> LINK. S.	+++				+++
<i>Absidia glauca</i> HAGEM * S., RK.	+++				+++
<i>Absidia orchidis</i> (VUILL.) HAGEM * . . S.	+++				+++
<i>Absidia repens</i> v. THIEG. * S.	+++				+++
<i>Absidia coerulea</i> BAIN. * S.	+++				+++
<i>Absidia ramosa</i> (LINDT.) LENDNER . . . S.	—	++	—	+++	+++
<i>Parasitella simplex</i> BAIN. * B., S.	—	++	—	+++	+++
<i>Pilaira anomala</i> (CES.) SCHRÖT. S.	—	+++	—	+++	+++
<i>Pilaira Moreaui</i> LING. S.	—+	—+	—+	+++	+++
<i>Rhizopus bovinus</i> v. BEYMA S.	++				++

Tabelle 11 (Fortsetzung).

Organismen	Kontr.	Pyrimid.	Thiazol	Pyrimid + Thiaz.	Aneurin
<i>Rhizopus maydis</i> BRÜDERL S.	++				++
<i>Rhizopus nigricans</i> EHRENB. . . . S., RK.	+++				++
<i>Rhizopus oryzae</i> WENT et PR. GEERL. S., M.	+++	+	++	+	+
<i>Thamnidium elegans</i> LINK S.	+++				+++
<i>Dicranophora fulva</i> SCHRÖT. S.	—				+++?
<i>Chaetocladium Brefeldii</i> v. THIEG. et LE MON- NIER S.	—				+?
<i>Choanephora persicaria</i> EDDY S.	—				++?
<i>Choanephora cucurbitarum</i> (B. et RAV.) THAX- TER S.	—				++?
<i>Cunninghamella echinulata</i> (THAXTER) SACC. S.	+++				+++
<i>Cunninghamella elegans</i> LENDNER . . . S.	+++				+++
<i>Piptocephalis Freseniana</i> DE BARY . . S.	+++				+++
<i>Syncephalastrum cinereum</i> BAIN. . . S.	+++				+++
<i>Mortierella pusilla</i> OUD. S.	+++				+++
<i>Mortierella isabellina</i> OUD. S.	+++				+++
<i>Mortierella candelabrum</i> v. THIEG. et LE MON- NIER RK.	+++				+++
Basidiobolaceae:					
<i>Basidiobolus ranarum</i> EIDAM RK.	+++				+++
Ascomycetes					
Hemiasci					
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> HANSEN	—				+ ³
<i>Nematospora gossypii</i> (ASHBY et NOWELL) GUILL. K. F.	—				+ ⁴
Euascmycetes					
Plectascales					
<i>Aspergillus niger</i> v. THIEG. . . . F. und div.	+++				+++
<i>Penicillium notatum</i> WESTL. F.	++	△			+++
Hypocreales					
<i>Fusarium conglutinans</i> WR. F.	+++				+++
<i>Nectria coccinea</i> (PERS.) FR. F.	+	△			+++
Sphaeriales					
<i>Sphaerulina trifolii</i> ROSTR. RK.	-+	++	-+	+++	+++
<i>Melanospora destruens</i> SHEAR H.	—	△			++ ⁵
<i>Hypoxylon pruinaum</i> (KLOTZSCH.) . . F.	—	△			+ ⁶
<i>Valsa pini</i> ALB. et SCHWEIN. F.	—	△			+ ⁷
<i>Melanconium betulinum</i> SCHM. et KUNZE F.	—	△			+ ⁸
Hysteriales					
<i>Lophodermium pinastri</i> (SCHRAD.) CHEV. F.	—	△			+ ⁹
Pezizales					
<i>Sclerotinia cinerea</i> (BON.) SCHR. . . . F.	+	△			++
<i>Helvella infula</i> SCHAEFF. F.	—	△			+++
Basidiomycetes					
Protobasidiomycetes					
Ustilaginales					
Ustilaginaceae:					
<i>Ustilago hordei</i> (PERS.) KELLERM. et SWINGLE SB.	++	++	++	++	++

Tabelle 11 (Fortsetzung).

Organismen	Kontr.	Pyrimid.	Thiazol	Pyrimid. + Thiaz.	Aneurin
<i>Ustilago avenae</i> (PERS.) JENSEN . . . SB.	+++	+++	+++	+++	+++
<i>Ustilago bromivora</i> (TUL.) v. WALDH. * SB.	+++	+++	+++	+++	+++
<i>Ustilago zeae</i> (BECKM.) UNGER . . . SB.	+++	+++	+++	+++	+++
<i>Ustilago nuda</i> (JENSEN) KELLERM. et SWING- LE SB.	überall gute Entwicklung				
<i>Ustilago tritici</i> (PERS.) JENSEN . . . SB.		"	"	"	
<i>Ustilago longissima</i> (SOW.) TUL. * . . SB.	++	+++	++	+++	+++
<i>Ustilago violacea</i> (PERS.) FUK. * f. <i>melandryi</i> <i>rubri</i> SB.	-+	-+	-+	+++	+++
<i>Ustilago scabiosae</i> (SOW.) WINT. * . . SB.	-+	-+	-+	++	+++
<i>Ustilago levis</i> (KELLERM. et SWINGLE) MAGN. SB.	+++	+++	+++	+++	+++
Autobasidiomycetes					
<i>Polyporales</i>					
Polyporaceae:					
<i>Polyporus adustus</i> (WILLD.) FR. . F., SB.	-	+++	-	+++	+++
<i>Polyporus abietinus</i> (DICKS) FR. F.	-	Δ			+++
<i>Polyporus annosus</i> FR. F.	-	Δ			+++
<i>Polyporus benzoinus</i> (WAHLBG.) FR. . . F.	-	Δ			+++
<i>Polyporus zonatus</i> (NEES) FR. . . F., SB.	-	-	-	++	++
<i>Polyporus fomentarius</i> L. F.	-	Δ			+++
<i>Polyporus Spraguei</i> B. et C. N.	-	Δ			+++
<i>Trametes serialis</i> FR. F.	-	Δ			+++
<i>Trametes cinnabarina</i> (JACQ.) FR. . . . F.	-	Δ			++
<i>Lenzites sepiaria</i> (WULF.) FR. F.	-	Δ			+++
<i>Daedalea unicolor</i> FR. F.	-	Δ			+++
<i>Merulius lacrymans</i> (JACQ.) FR. F.	-	Δ			++
<i>Fomes pinicola</i> (Sw.) CKE. F.	-	Δ			+++
<i>Stereum frustulosum</i> FR. N.	-	Δ			+++
<i>Fomes igniarius</i> (L.) FR. N.	-	Δ			+++
<i>Agaricales</i>					
<i>Psalliota campestris</i> (L.) FR. . . RK., S.	+++				+++
<i>Schizophyllum commune</i> FR. RK.	-+	++	-+	++	+++
<i>Tricholoma nudum</i> BULL. F.	-	Δ			+++
<i>Cantharellales</i>					
<i>Hydnum erinaceus</i> BULL. N.	-	Δ			+++
<i>Dacryomycetales</i>					
<i>Dacryomyces stillatus</i> NEES F.	-	Δ			+++
Fungi imperfecti					
<i>Dematium nigrum</i> LINK S.	-+	+++	-+	+++	+++
<i>Rhodotorula aurea</i> (SAITO) LODDER . . S.	++	++	++	++	++
<i>Rhodotorula rubra</i> (DEMME) LODDER . S.	-+	+++	-+	+++	+++
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i> (JÖRG) HARRIS. S.	-+	+++	-+	+++	+++
id. var. <i>sanguinea</i> (SCHIMON) LODDER R. S.	-+	+++	-+	+++	+++
<i>Rhodotorula flava</i> (SAITO) LODDER . . S.	+	+++		+++	+++
<i>Rhodotorula sanniei</i> (CIF. et RED.) LODDER FR.		+++	+		+++
<i>Torula fermentati</i> SAITO RK.	+	+	+	+	++
<i>Torula Laurentii</i> KUFF. RK.	+	+	+	+++	+++

Tabelle 11 (Fortsetzung).

Organismen	Kontr.	Pyrimid.	Thiazol	Pyrimid. + Thiaz.	Aneurin
<i>Torula sphaerica</i> HAMMER et CORDES RK.	+	+	+	+	+
<i>Torula kefyr</i> BEIJER. RK.	—	—	—	—	—
<i>Torula Hansen?</i> RK.	++	++	++	++	++
<i>Torula cremoris</i> HAMMER et CORDES RK.	—	—	—	—	—
<i>Torula rosea</i> RK.	—+	+++	—+	+++	+++
<i>Sclerotium delphinii</i> WELCH RK.	—+	++	—+	+++	+++
<i>Sclerotium Rolfsii</i> SACC. RK.	—+	++	—+	+++	+++
Mastigophora (Flagellaten)					
Phytomastigina					
<i>Polytoma uvella</i> LD.	+++				+++
<i>Polytoma obtusum</i> LD.	+++				+++
<i>Polytomella caeca</i> LD.	—	—	—	+++	+++
<i>Chilomonas paramaecium</i> LD.	—	—	—	+++	+++
<i>Polytoma caudatum</i> var. <i>astigmata</i> . LD.	—	—	+++	+++	+++
<i>Polytoma ocellatum</i> LD.	—	—	+++	+++	+++
<i>Polytoma caudatum</i> LD.	—	—	+++	+++	+++
Zoomastigina					
<i>Strigomonas oncopelti</i> ML.	—	—	—	—	+++
<i>Strigomonas fasciculata</i> ML.	—	—	—	—	+++ ¹⁰
<i>Strigomonas fuscicidarum</i> ML.	—	—	—	—	+++ ¹¹
Rhizopoda					
<i>Acanthamoeba castellani</i> L.	—	+++	?	+++	+++
Ciliata					
<i>Glaucoma piriformis</i> AML.	—	—	—	—	+++

F., FRIES. — FR., FROMAGEOT et TCHANG. — H., HAWKER. — K., KNIGHT. — KF., KÖGL und FRIES. — L., A. LWOFF. — ML., M. LWOFF. — AML., A. und M. LWOFF. — M., MOSER. — MS., MÜLLER und SCHOPFER. — N., NOECKER. — R., ROBBINS. — RK., ROBBINS und KAVANAGH. — S., SCHOPFER. — SB., SCHOPFER und BLUMER. — T., TATUM, WOOD und PETERSON. — * Beide Geschlechter wurden geprüft. Δ Nicht geprüft auf die Komponenten des Aneurins.

- 1 in Gegenwart von unbekanntem ätherlöslichen Faktoren.
- 2 „ „ „ Nicotinsäure und Biotin (s. S. 131).
- 3 „ „ „ Bios I, IIa, IIb . . . (s. S. 104 ff).
- 4 „ „ „ Bios I und IIb (Biotin). Aneurin wirkt hier schwach (s. S. 116).
- 5 „ „ „ Bios IIb (Biotin) (s. S. 118).
- 6 „ „ „ Bios IIb (s. S. 118).
- 7 „ „ „ Bios IIb (s. S. 118).
- 8 „ „ „ Bios I und IIb (s. S. 118).
- 9 „ „ „ Bios IIb (s. S. 118).
- 10 „ „ „ Hämatin (s. S. 126).
- 11 „ „ „ Hämatin (s. S. 127).

Kürzlich sind noch folgende Organismen auf Aneurin und dessen Komponenten geprüft worden: *Tilletia tritici* (BJERK.) WINT., verlangt

das ganze Aneurinmolekül und *Cercospora herpotrichoides* FRON., verlangt nur Pyrimidin, beide nach DEFAGO (persönliche Mitteilung vom 19. 4. 39), ferner *Tilletia horrida* TAK. verlangt Pyrimidin und Thiazol, (nach SCHOPFER und BLUMER, unveröffentlicht).

E. Das Aneurinbedürfnis verschiedener Organismen in quantitativer Hinsicht.

Es ist schwierig, wenn nicht unmöglich, das Aneurinbedürfnis verschiedener Organismen in quantitativer Hinsicht zu vergleichen. Dafür fehlen meistens die genauen Unterlagen, besonders das Trockengewicht der Ernte. Zudem ist ein Vergleich nur auf Grund der Kurven in Funktion der Aneurinkonzentration möglich (vgl. *Phycomyces*, S. 26). Da die Zusammensetzung der Nährlösung, wie auch die Art der Impfung und die Menge des Impfmateri als von großer Bedeutung sind, können die Ergebnisse verschiedener Autoren nur mit Vorbehalt miteinander verglichen werden.

In Tabelle 12 soll immerhin ein Vergleich für einige der eingehender untersuchten Organismen versucht werden. Man ersieht aus dieser Zusammenstellung, daß der Quotient Trockengewicht / optimale Dosis für *Phycomyces*, *Rhodotorula rubra* und *Polyporus adustus* ungefähr gleich hoch ist. Für *Ustilago* und *Dematium nigrum* ist er dagegen bedeutend höher.

Tabelle 12. Zusammenstellung des Aneurinbedarfes bei verschiedenen Organismen. [Nach SCHOPFER und BLUMER 1938 (2).]

1	2	3	4	5	5/2
Name	Optimale Dosis	Konzentration	Molare Konzentration	Trockengewicht in mg	Quotient
<i>Bakterien.</i>					
<i>Staphylococcus aureus</i> KNIGHT (3,4) Aneurin	0,3 γ /100 ccm ¹	3·10 ⁻⁹	8,9·10 ⁻⁹	—	—
<i>Propionibacterium pentosaceum</i> TATUM, WOOD u. PETERSON, Aneurin	0,5 γ /100 ccm ²	5·10 ⁻⁹	14,9·10 ⁻⁹	—	—
<i>Phycomyceten.</i>					
<i>Phycomyces blakesleeanus</i> SCHOPFER (13), Aneurin	0,5 γ /25 ccm	20·10 ⁻⁹	59,5·10 ⁻⁹	100	200 000
<i>Ascomyceten.</i>					
<i>Rhodotorula rubra</i> SCHOPFER (22), Pyr- imidin	0,2 γ /25 ccm	8·10 ⁻⁹	58·10 ⁻⁹	40	200 000

Tabelle 12 (Fortsetzung).

1	2	3	4	5	5/2
Name	Optimale Dosis	Konzentration	Molare Konzentration	Trockengewicht in mg	Quotient
<i>Basidiomyceten.</i>					
<i>Autobasidiomyceten.</i>					
<i>Polyporus adustus</i> ³ KÖGL und FRIES, Aneurin	0,044 γ /25 ccm ⁴	1,76 · 10 ⁻⁹	5,2 · 10 ⁻⁹	16,7	380 000
<i>Protobasidiomyceten.</i>					
<i>Ustilago violacea</i> SCHOPFER und BLUMER (2), Aneurin . .	0,004 γ /25 ccm 0,015 γ /25 ccm ⁵	0,16 · 10 ⁻⁹ 0,4 · 10 ⁻⁹	0,48 · 10 ⁻⁹ 1,18 · 10 ⁻⁹	— 25	2 500 000
<i>Fungi imperfecti.</i>					
<i>Dematium nigrum</i> , SCHOPFER (22), Pyrimidin	0,02 γ /25 ccm	0,8 · 10 ⁻⁹	5,80 · 10 ⁻⁹	20	1 000 000

¹ In Gegenwart von Nicotinsäureamid 4 · 10⁻⁵ mol für 10 ccm. — ² In Gegenwart anderer Wirkstoffe, die mit Äther aus Hefe extrahiert wurden. ³ Die Konzentration wurde nach einer Kurve der Autoren berechnet. — ⁴ Impfung durch Myzelfragmente, von denen aus sich die gewogene Trockensubstanz entwickelt. — ⁵ Dieser Berechnung wurde eine optimale Dosis von 0,01 γ zugrunde gelegt.

Der „ökonomische Koeffizient“ für Wachstumsfaktoren.

Für *Phycomyces* haben wir den Wert des Quotienten

$$\frac{\text{Gewicht des Wachstumsfaktors}}{\text{Erntegewicht}}$$

schon erörtert und festgestellt, daß er je nach der Entwicklung variiert.

Dieser ökonomische Koeffizient kann für alle Arten aufgestellt werden, für die wir die notwendigen Unterlagen haben. Man erhält:

<i>Phycomyces blak.</i>	0,5 γ /100 mg = 0,005 γ für 1 mg Trockengewicht
<i>Rhodotorula rubra</i>	0,2 γ / 40 mg = 0,005 γ „ 1 mg „
<i>Dematium nigrum</i>	0,02 γ / 20 mg = 0,001 γ „ 1 mg „
<i>Ustilago violacea</i>	0,01 γ / 25 mg = 0,0004 γ „ 1 mg „

Da die Werte für die Menge des Wachstumsfaktors sehr klein sind, hängt das Verhältnis in erster Linie vom Nenner ab. Allerdings ist das Gewicht der gebildeten Trockensubstanz nicht nur vom Vitamin Gehalt der Nährlösung, sondern auch von anderen Bedingungen abhängig, die mit den Wachstumsfaktoren nichts zu tun haben. Es müssen im Aneurin Gehalt jeder Art spezifische Unterschiede vorhanden sein. Der Koeffizient hat deshalb keine tiefere Bedeutung [SCHOPFER und BLUMER (2)]. Er zeigt aber immerhin die außerordentliche Empfindlichkeit

der Mikroorganismen gegenüber dem Aneurin und liefert damit ähnliche Anhaltspunkte wie der reziproke Koeffizient:

$$\frac{\text{Erntegewicht}}{\text{Gewicht des Wachstumsfaktors}}$$

(vgl. S. 72 und Tabelle 12) [s. MITSCHERLICH, PRINGSHEIM (1), NIETHAMMER für das Gesetz vom Minimum

F. Das Aneurinbedürfnis in Beziehung zur systematischen Stellung der Mikroorganismen.

(„Polyphyletische“ Entstehung der Auxo-heterotrophie.)

Das Aneurinbedürfnis mit allen seinen Abstufungen tritt in allen größeren systematischen Gruppen auf, und zwar ohne Beziehung zur verwandtschaftlichen Stellung der einzelnen Arten. Sogar innerhalb einer Gattung können verschiedene Typen vorkommen, ja es scheint nicht ausgeschlossen, daß sich sogar Formen oder Rassen einer Art in bezug auf ihr Bedürfnis an Wachstumsfaktoren stark voneinander unterscheiden könnten. Immerhin aber zeigt sich eine Tatsache, auf die wir schon hingewiesen haben: Nur eine kleine Zahl von Arten ist auf Zufuhr des Aneurins von außen angewiesen. Die Mehrzahl der Arten vermag es selber zu synthetisieren.

(Vgl. in Tabelle 11 Gattung *Mucor*, *Absidia*, *Phytophthora*, *Ustilago*, *Rhodotorula*.)

Arten, die ohne Zugabe von Wachstumsfaktoren gedeihen:

Pythium scleroteichum

Mucor hiemalis

Mucor mucedo

Absidia glauca

Ustilago tritici

Rhodotorula aurea

Polytoma uvella

Arten, die Aneurin oder dessen Komponenten benötigen:

Pythium Butleri (Pyrimidin).

Mucor Ramannianus (Thiazol).

Phycomyces blakesleeana (Pyrimidin und Thiazol).

Absidia ramosa (Pyrimidin).

Ustilago violacea (Pyrimidin u. Thiazol).

Rhodotorula rubra (Pyrimidin).

Torula fermentati (Pyrimidin und Thiazol).

Polytomella caeca (Pyrimidin und Thiazol).

Polytoma caudatum (Thiazol).

G. Die Spezifität der Wirkung des Aneurins und seiner Komponenten.

Die raschen Fortschritte, die in der Chemie des Aneurins in der letzten Zeit erzielt wurden, ermöglichen uns heute, das Problem der Konstitutionsspezifität dieser Substanzen in allen Einzelheiten zu untersuchen. Aus den Ergebnissen der Tierphysiologie wissen wir, daß diese Konstitutionsspezifität sehr ausgeprägt ist. Die meisten Analoge des Aneurins haben keine Wirkung.

Tabelle 13. Einfluß der Substitutionen auf die Wirksamkeit des Aneurins im Tiertest (Ratte). (Aus PETERS und O'BRIEN.)

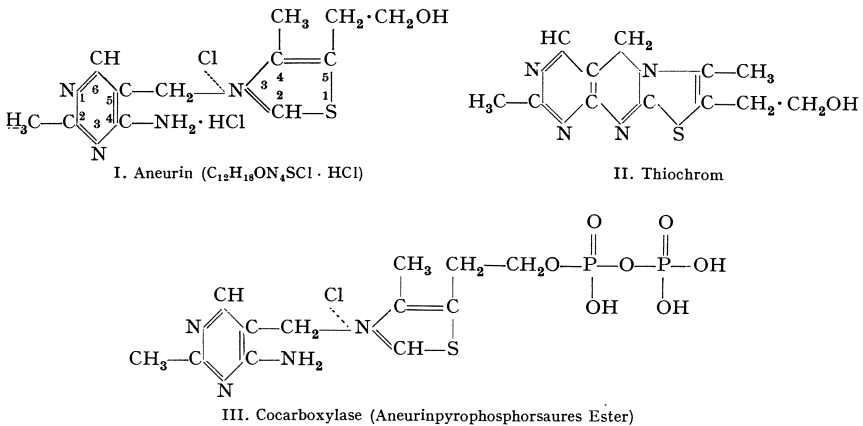
Substitutionen				Wirkung
Pyrimidin		Thiazol		
2	4	2	5	
CH ₃	NH ₂	H	CH ₂ ·CH ₂ OH	typische Aneurinwirkung
CH ₃	NH ₂	H	H	fast Null
CH ₃	OH	H	CH ₂ ·CH ₂ OH	„ „
CH ₃	OH	H	H	„ „
CH ₃	NH ₂	CH ₃	CH ₂ ·CH ₂ OH	„ „
Cl	NH ₂	H	CH ₂ ·CH ₂ ·CH ₂ OH	„ „
CH ₃	OH	H	CH ₂ ·CH ₂ Cl	Null
Cl	Cl	H	CH ₂ ·CH ₂ OH	„

Eine Substitution in einer dieser Stellungen im Pyrimidin oder Thiazol hebt die Wirkung vollständig auf.

Ein Aneurin, dessen Pyrimidin in Stellung 2 eine Äthylgruppe an Stelle einer Methylgruppe besitzt oder ein Isovitamin mit der Methylgruppe in 6 statt in 2 haben auf das Tier nur noch die Hälfte der eigentlichen Aneurinwirkung.

1. Substitutionen im Aneurinmolekül.

Die Wirkung verschiedener Aneurine und Analoge wurde untersucht, und zwar auf Organismen, die das ganze Aneurinmolekül benötigen, und auf solche, die mit dem Gemisch beider Komponenten auskommen.



Die folgenden Resultate (Tabelle 14) gelten, solange die Substanzen absolut rein sind und nicht etwa Spuren aktiven Aneurins enthalten, was unter Umständen vorkommen kann (Chloroaneurin z. B. nach KNIGHT und MCILWAIN).

Tabelle 14.
Wirkungen verschiedener Substitutionen im Aneurinmolekül.

	<i>Glaucoma, Strigomonas</i>	<i>Phycomyces</i>	<i>Ustilago violacea</i>	<i>Staphylococcus</i>
1. Aneurin (Formel I): 4 Methyl-5- β -hydroxyäthyl-N-[(2-methyl-4-aminopyrimidyl[5]-methyl)-thiazol	+ L.	+ S. RK. Si.	+ SB.	+ K.
Substitution im Thiazol in Stellung 5:				
2. 4-Methyl-5- β -hydroxypropyl-N-[(2-methyl-4-aminopyrimidyl [5])-methyl]-thiazol	+ L.	— B. S.		+ KMc.
3. 4-Methyl-5- γ -hydroxypropyl-N-[(2-methyl-4-aminopyrimidyl - [5])-methyl]-thiazol	+ L.	— B. S.		+ KMc.
4. 4-Methyl-N-[(2 methyl-4-aminopyrimidyl[5])-methyl]-thiazol (Aneurin ohne β -hydroxyäthyl-Gruppe)	+ L.	— B. + Si. S.		— K.
5. Cocarboxylase (Formel III)				
Substitution im Thiazol in Stellung 2:				
6. 2-Methyl-aneurin (CH ₃ in 2 des Thiazols)				— KMc.
Substitution im Pyrimidin in Stellung 2:				
7. 4-Methyl-5- β -hydroxyäthyl-N-[(2-äthyl-4-aminopyrimidyl[5])-methyl]-thiazol .	+ L. ¹	+ S.	+ SB.	
8. 4-Methyl-5- β -hydroxyäthyl-N-[(6-methyl-4-aminopyrimidyl [5]) - methyl]-thiazol (Isovitamin, CH ₃ in 6, H in 2) .	— L.			+ KMc.
9. Chloroaneurin (CH ₃ in 2 durch Cl substituiert, CH ₃ in 6)		—		+ KMc.
10. Thiochrom (Formel II)	— L.	— S.	— SB.	— K.
Ersetzung des Pyrimidins durch eine andere Gruppe:				
11. 3-Benzyl-4-methyl-5- β -hydroxyäthyl-thiazol		— S.	— SB.	
12. 3-(4'(5') Methylimidazol)-4-methyl-5- β -hydroxyäthylthiazol		— S.	— SB.	

L., A. und M. LWOFF (6) für *Glaucoma*, M. LWOFF für *Strigomonas*. — B., BONNER und ERICKSON. — K., KNIGHT (4). — KMc., KNIGHT und MAC ILWAIN. — Si., SINCLAIR. — S., SCHOPFER (19, 24 und unveröffentlicht). — SB., SCHOPFER und BLUMER (2). — RK., ROBBINS und KAVANAGH (3, 4, 5). — ¹ Persönliche Mitteilung von A. LWOFF.

Auf die Verbindungen 2 und 3 reagieren die 4 Organismen verschieden. Nach A. und M. LWOFF (6) sind sie für *Glaucoma* und nach KNIGHT und McILWAIN für *Staphylococcus* wirksam; dagegen nach BONNER und ERICKSON für *Phycomyces* nicht. Dasselbe gilt für das Chloroaneurin. Die oben mitgeteilten Ergebnisse sind besonders interessant für Organismen vom *Glaucoma*-Typus, die auf das ganze Aneurinmolekül angewiesen sind. Die Spezifität

ist also ziemlich ausgeprägt. Besondere Bedeutung hat die Stellung 5 des Thiazols. Die Methylgruppe in Stellung 3 des Pyrimidins kann ohne Herabsetzung der Wirkung substituiert werden. Die Verlagerung dieser Methylgruppe nach Stellung 6 wirkt für *Glaucoma*, aber nicht für *Staphylococcus* inaktivierend. Das Äthylaneurin (Tabelle 14, Nr. 7) [SCHOPFER (22, 24), ROBBINS und KAVANAGH (5)] ist in gleichem Maße wirksam wie das normale Aneurin. Es ist nach unseren heutigen Kenntnissen wohl die einzige Substanz, die das eigentliche Aneurin bei *Phycomyces* ersetzen kann.

Es zeigt sich immerhin, daß fast überall, wo Analoge des Aneurins aktiv sind, die Wirksamkeit doch mehr oder weniger herabgesetzt erscheint; für die Derivate 2 und 3 beträgt sie 2 bis 3/1000 derjenigen des Aneurins [A. und M. LWOFF (6)].

2. Substitutionen in den Aneurinkomponenten.

Von diesen Substanzen ist eine viel größere Zahl von Substitutionsprodukten erhältlich. Ihre Wirkung wurde von KNIGHT (4), KNIGHT und McILWAIN an *Staphylococcus*, von SCHOPFER (19, 22), ROBBINS und KAVANAGH (3, 4), SINCLAIR, BONNER und ERICKSON an *Phycomyces* und von LWOFF und DUSI (4, 5) an Flagellaten untersucht.

a) Thiazolderivate.

Diese verschiedenen Substanzen wurden gewöhnlich, aber nicht immer, in Mengen verwendet, die dem im Aneurin enthaltenen Thiazol äquimolekular sind. Selbstverständlich ist daneben die optimale Menge von normalem Pyrimidin vorhanden. Es wurden in dieser Richtung fünf Pyrimidin- + Thiazolorganismen, nämlich *Phycomyces*, *Staphylococcus aureus*, *Ustilago violacea*, *Polytomella caeca*, *Chilomonas paramaecium* sowie drei Thiazolorganismen: *Mucor Ramannianus*, *Polytoma ocellatum* und *P. caudatum* untersucht. Die vier Flagellaten (Leukophyten) reagieren nach Lwoff gleich.

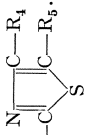
Die verschiedenen Organismen verhalten sich auf einige dieser Substitutionsprodukte nicht in gleicher Weise (Tabelle 15):

Stellung 2: CH ₃ substituiert zu H:	auf <i>Staphylococcus</i> unwirksam.
	· auf Flagellaten wirksam.
Stellung 5: -Aminomethyl . . .	auf <i>Staphylococcus</i> unwirksam.
	· auf Flagellaten schwach wirksam.
-β-Hydroxypropyl . . .	auf <i>Phycomyces</i> unwirksam.
	· auf <i>Staphylococcus</i> schwach wirksam.
-γ-Hydroxypropyl . . .	auf Flagellaten sehr schwach wirksam.
-Azetoxyäthyl . . .	Wirkung auf <i>Staphylococcus</i> und Flagellaten herabgesetzt.

Besonders wichtig ist die Stellung 5 des Thiazols (Bildung der Cocarboxylase). Man ersieht ihre stark spezifische Wirkung daraus, daß nach ROBBINS und KAVANAGH nur die Substitutionen von β-Chloräthyl und β-Oxyäthyl ein schwaches Wachstum ermöglichen.

Vollständig inaktiviert wird das Thiazol durch Einführung folgender Gruppen in Stellung 5: Azetat, Azetamid, Äthylazetat, Carbäthoxyäthyl, β-Hydroxypropyl, γ-Hydroxypropyl, H oder CH₃.

Bei der Substitution von β-Hydroxyäthyl in 5 ist besonders das Hydroxyl wichtig. Wird dieses durch eine Äthoxy-Gruppe oder durch

Tabelle 15. Wirkung verschiedener Substitutionen im Thiazol: R₁—C—R₄, R₂—C—R₃.

Für A, B, C, D und F optimale Dosis des normalen Pyrimidins								
2	4	5	Staphylo- coccus	Flagellaten	Phycomyces	Ustilago violacea	Mucor Raumen- titanus	Pisum
			A	B	C	D	E	F
In Stellung 5.								
H	CH ₃	CH ₂ CH ₂ OH (normales Thi- azol)	+ K.	+ LD.	+ S. Sl. RK. B.	+ SB.	+ MS.	
H	CH ₃	CHOH·CH ₃	— K.	— LD.	— B.			+ BB.
H	CH ₃	CH ₂ CH ₂ NH ₂ (Pikrat)	— K.	+ LD.	+ RK. B.			+ BB.
H	CH ₃	CH ₂ CH ₂ Cl (Pikrat)			+ RK. B.			+ BB.
H	CH ₃	CH ₂ CH ₂ O·CO·C ₂ H ₅ (Pikrat)			+ RK.			
H	CH ₃	CH ₂ CH ₂ O·COO·C ₂ H ₅	+ K.	+ LD.	— RK.			
H	CH ₃	CH ₂ CH ₂ O·CO·CH ₃	+ K	+ LD.	— RK. B.			+ BB.
H	CH ₃	CH ₂ CHOH·CH ₃	+ K.	+ LD.	— RK. B.			+ BB.
H	CH ₃	(CH ₂) ₃ OH	— K.	+ LD.				
H	CH ₃	CH ₂ CH·NH ₂ COOH			— B.			+ BB.
H	CH ₃	CH ₂ CH ₂ N(CH ₃)Br			— B.			+ BB.
H	CH ₃	CH ₂ CH ₂ SH (Pikrat)			— RK.			+ BB.
H	CH ₃	CH ₂ CO·NH ₂			— B.			+ BB.
H	CH ₃	CH ₂ =CH ₂	+ — K.	+ LD.	— B.			
H	CH ₃	CH ₂ COOH			— B.			
H	CH ₃	CH ₂ CH ₃	— K.	— LD.	— B.			
H	CH ₃	CHCN			— B.			
H	CH ₂	CH ₂ Br			— B.			
H	CH ₃	CO·CH ₃			— B.			
H	CH ₃	CHO			— B.			
H	CH ₃	SH	— K.	— LD.	— S. B.	— SB.	— MS.	
H	CH ₃	CH ₃	— K.	— LD.	— S.	— SB.	— MS.	
H	CH ₃	H	— K.	— LD.				

		In Stellung 2.				
CH ₃	CH ₃	CH ₂ CH ₂ OH	— K.	+ LD.	— RK. B.	+ BB.
In Stellung 2 und 4, 2 und 5:						
NH ₂	CH ₃	CH ₂ CH ₂ OH	— K.	— LD.	— B.	—
SH	CH ₃	CH ₂ CH ₂ OH	— K.	— LD.	— S.	— SB.
OH	CH ₃	CH ₂ CH ₂ O · CO · CH ₃	— K.	— LD.	—	— MS.
In Stellung 4 und 5.						
H	CH ₂ OH	CH ₂ CH ₃	—	—	— B.	—
H	CH ₂ CH ₂ Cl	CH ₃	—	—	— B.	—
Methjodid des Thiazols						
3-Benzyl-4-methyl-5-β-hydroxyäthyl-thiazol						
3-(4'(5')-Methylimidazol-4-methyl-5-β-hydroxyäthyl-thiazol						
B., BONNER und ERICKSON. — BB., BONNER und BUCHMAN. — K., KNIGHT (4), KNIGHT und McILWAIN. — LD.,						
A. LWOFF und DUSI (4). — MS., MÜLLER und SCHOPFER. — RK., ROBBINS und KAVANAGH (4). — S., SCHOPFER (19). SB., SCHOPFER						
und BLUMER (2). — SI., SINCLAIR.						

Chlor ersetzt, so wird damit die Wirkung auf *Phycomyces* stark herabgesetzt [ROBBINS und KAVANAGH (4)].

In Stellung 2 wird das Thiazol durch alle angeführten Substitutionen inaktiviert (mit Ausnahme des Methyls für Flagellaten, nach LWOFF).

Eine Anzahl von Aneurinanalogen enthalten ein Thiazol von normaler Struktur neben einem inaktiven Pyrimidin. Hier wurde mehrfach festgestellt, daß diese Analoge allein unwirksam sind, daß aber das aktive Thiazol in Gegenwart eines aktiven Pyrimidins ausgenützt werden kann (s. S. 92). Dies ist z. B. für das Benzylthiazol und für das Imidazolthiazol der Fall. In Gegenwart von Pyrimidin sind diese beiden Substitutionsprodukte auf *Phycomyces* [SCHOPFER 1937 (19)] und auf *Staphylococcus* (KNIGHT und McILWAIN 1938) wirksam. Für *Phycomyces* kann man dabei eine Wirkung von Verunreinigungen (durch aktives Thiazol) ausschließen; die optimal wirkende Menge ist für beide Substanzen gleich. Nach KNIGHT und McILWAIN kann *Staphylococcus* Chloroaneurin als Thiazolquelle benutzen (in Stellung 2 des Pyrimidins Chlor anstatt CH₃); das gleiche trifft zu für *Phycomyces* (Cl in Stellung 2 und 4!) [ROBBINS (2)].

Chilomonas und *Polytomella caeca* können nach LWOFF und DUSI (4) das aktive Thiazol des Isovitamins verwenden (Methyl

in 6 statt in 3). Das entsprechende Pyrimidin ist nicht untersucht worden.

Das Thiochrom liefert weder für *Phycomyces* noch für *Staphylococcus* oder die Flagellaten ein aktives Thiazol. Für *Polytoma ocellatum* ist seine Wirksamkeit 200mal schwächer als die des Thiazols, für *Chilomonas* sogar 10000mal [LWOFF und DUSI (4)].

Wir haben (1937) auf die Bedeutung dieser Tatsachen für den Stoffwechsel und die Hydrolyse des Aneurins und seiner Analoge hingewiesen (s. S. 92).

Im allgemeinen scheinen die Leukophyten am wenigsten empfindlich zu sein, was die Substitutionen anbelangt. In dieser Hinsicht stehen sie der *Pisum*-Wurzel sehr nahe. Die 3 Substitutionsprodukte (in 5: CHOHCH_3 , $\text{CH}_2\text{CHOHCH}_3$ und $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$) werden aber nach BONNER und BUCHMAN durch *Pisum* direkt ausgewertet und nicht in normales Thiazol umgewandelt (s. S. 78). Den höchsten Grad der Konstitutionspezifität finden wir bei *Phycomyces*.

b) Pyrimidinderivate.

Von den Organismen, die Pyrimidin und Thiazol benötigen, wurden untersucht: *Staphylococcus aureus*, *Phycomyces*, *Ustilago violacea*, *Chilomonas paramaecium*, *Polytomella caeca* (die beiden letzteren sind in der Tabelle 16 unter der Rubrik Flagellaten zusammengefaßt). Von den Organismen, die mit Pyrimidin allein auskommen, wurden *Rhodotorula rubra* (Stamm von BAARN) und *Dematiium nigrum* berücksichtigt. Bei den Pyrimidinpilzen wurde eine optimale Dosis von normalem Thiazol beigelegt (Tabelle 16).

Andere in ihrer Konstitution noch stärker abweichende Pyrimidine wurden besonders von ROBBINS und KAVANAGH (3) angewendet. Die Ergebnisse waren überall negativ.

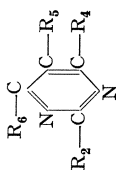
Man kann also feststellen, daß Substitutionen in Stellung 4 die vitaminische Wirksamkeit zerstören. Wird in Stellung 2 ein Äthyl an Stelle des Methyls substituiert, so hat dies keinen Einfluß [SCHOPFER (22, 24)]. Beim Isovitamin zerstört eine Substitution in Stellung 6 (CH_3 in 6 anstatt in 2) die Wirksamkeit auf *Staphylococcus* (KNIGHT und McILWAIN) und auf Flagellaten [LWOFF und DUSI (5)] nicht. Bei letzteren beträgt sie $\frac{1}{10000}$ der Wirkung des Aneurins.

Eine Anzahl Substitutionen sind in Stellung 5 ohne Herabsetzung der Wirksamkeit möglich: Hydroxymethyl, Brommethyl, Äthoxymethyl, Thioformylaminomethyl. Dagegen wirken H, Azetamid, CH_3 inaktivierend auf *Phycomyces* [ROBBINS und KAVANAGH (3)]. Diese Stellung ist von besonderem Interesse, weil hier die Kondensation mit dem Thiazol stattfindet. Es muß eine reaktionsfähige Gruppe vorhanden sein.

Die Konstitutionsspezifität der Wirkung des Pyrimidins ist also ebenso klar wie die des Thiazols. Besonders wichtig erscheint hier die Aminogruppe in Stellung 4.

Fast alle untersuchten Organismen reagieren gleich. Nur das 2,5-Dimethyl-4-amino-pyrimidin ist für *Rhodotorula* neben dem normalen

Tabelle 16. Wirkung verschiedener Substitutionen im Pyrimidin (oder Pyrimidinchlorhydrat).



Für A, B, C, D, E in Gegenwart der optimalen Dosis des normalen Thiazols								
2	4	5	6	Staphylococcus	Flagellaten	Phycomyces	Ustilago violacea	Rhodotorula rubra und Dematiaceen
				A	B	C	D	E
CH ₃	NH ₂	CH ₂ NH ₂	H	+ K.	+ LD.	+ S. Sr. RK. B.	+ SB.	+ S.
CH ₃	NH ₂	CH ₂ NHCHS	H	+ K.	+ LD.	+ Sr. RK. ± S. B.	± SB.	
CH ₃	NH ₂	CH ₂ OH	H	+ KM.	+ LD.	+ B.		
CH ₃	NH ₂	CH ₂ OEt	H			- B.		
CH ₃	NH ₂	CH ₂ COOH	H	- KM.	- LD.	+ RK. B.		
CH ₃	NH ₂	CH ₂ CONH ₂	H			- S.		
CH ₃	NH ₂	CH ₂ Br	H	- KM.		± B. B.		
CH ₃	NH ₂	CH ₃	H			- RK. B.		+ S.
CH ₃	NH ₂	CN	H			± S.		
CH ₃	NH	H	H			- S.		
CH ₃	CH ₃ O	CH ₂ NH ₂	H	- KM.	- LD.			
CH ₃	OH	CH ₂ NH ₂	H	- KM.	- LD.			
CH ₃		CH ₂ NH ₂	H			- S.		
CH ₃		CH ₂ OH (für A und B)	H			- S.		
		CH ₂ NHCHS (für C)	H			- S.		
		CH ₂ OEt	H			- S.		
CH ₃	OH	H	H	- KM.		- B.	- SB.	+ S.
CH ₃	SH	CH ₂ NHCHS	H			+ S.		
C ₂ H ₅	NH ₂	CH ₂ NHCHS	H	- K.	- LD.			
OH	NH ₂	H (Cytosin)	H			- S.	- SB.	- S.
OH	OH	H (Uracil)	H			- S.	- SB.	- S.
CH ₃	OH	H	NH ₂	- KM.	- LD.			
CH ₃	OH	NH ₃	CH ₃	- KM.				
CH ₃	H	COO·C ₂ H ₅	NH ₂			- S.	- SB.	

B., BONNER. — K., KNIGHT (4). — KM., KNIGHT und McILWAIN. — LD., A. LWOFF und DUST (5). — RK., ROBBINS und KAVANAGH (3, 5). — S., SCHOPFER (19, 22, 24). — SB., SCHOPFER und BLUMER (2). — Sr., SINCLAIR.

Pyrimidin brauchbar. Für *Phycomyces* und *Staphylococcus* kann das Thiochrom als Pyrimidinquelle in Betracht kommen. Dagegen wirkt diese Substanz auf *Polytomella caeca* und *Chilomonas paramaecium* bedeutend schwächer [LWOFF und DUSI (5)]. Thiochrom allein ist als Pyrimidinquelle (in hohen Konzentrationen) für *Rhodotorula* brauchbar [SCHOPFER (22)] (siehe S. 92).

Staphylococcus und die Flagellaten können aus einem Aneurin analog dem 4-Methyl-N-[(2-Methyl-4-aminopyrimidyl-(5))-methyl]-thiazol das aktive Pyrimidin beziehen. Dieses Analog enthält keine 5- β -Hydroxy-äthyl-Gruppe und ersetzt das Aneurin nicht. Es ist bekannt, daß das 4-Methyl-thiazol sowohl für *Phycomyces* als auch für *Staphylococcus* und die Flagellaten unwirksam ist.

3. Spezifität und Konzentration.

Mit *Phycomyces* und *Ustilago violacea* [SCHOPFER und BLUMER (2)] konnten wir wiederholt feststellen, daß die spezifische Wirkung bei höheren Konzentrationen verschwindet. Supraoptimale Dosen aller Substitutionsprodukte wirken auf *Ustilago violacea* ähnlich. Eine inaktive Substanz kann also in hohen Dosen aktiv werden. Diese Erscheinung wurde auch bei anderen Mikroorganismen beobachtet.

Nach unserer Ansicht ist ein Vergleich der Wirkung verschiedener Derivate nur bei Verwendung optimaler Dosen möglich. Diese müssen den Konzentrationen entsprechen, die für die Ausgangsprodukte, Aneurin, Pyrimidin oder Thiazol als optimal bestimmt worden sind. Bei höheren Konzentrationen scheint eine Substitution durch den Organismus erfolgen zu können. Damit können an sich unwirksame Substanzen aktiv werden. Die Vorgänge, die sich hier abspielen, sind nicht bekannt.

4. Die Bestandteile des Aneurins und der Faktor M.

Als Faktor M haben wir die Gesamtheit der thermostabilen und laugebeständigen Wachstumsfaktoren definiert, die auf auxo-heterotrophe Mucorineen wirken, die aber vom Aneurin verschieden sind (s. S. 40).

Für *Phycomyces* wird durch eine erhöhte Asparagindosis die Entwicklung stärker gefördert, als man nach der vorhandenen Aneurinmenge vermuten müßte. Man könnte annehmen, daß das Asparagin hier als zusätzlicher Hilfsstoff wirkt, ohne jedoch als Wachstumsfaktor im eigentlichen Sinne des Wortes gelten zu dürfen. Wenn es sich aber zeigt, daß ein natürliches Substrat, dessen hoher Gehalt an Aneurin bekannt ist, noch einen anderen echten Wachstumsfaktor enthält, drängt sich eine andere Erklärung auf.

Wir wissen, daß das Gemisch von Pyrimidin und Thiazol ganz andere Eigenschaften besitzt als das Aneurin. Es ist vor allem sehr thermostabil und relativ laugebeständig. Für einen Organismus, der Pyrimidin plus Thiazol benötigt, kann dieses Gemisch als Wachstumsfaktor dienen,

auch wenn das freie Aneurin durch Wirkung von Alkalien zerstört worden ist. Wir nehmen deshalb an, daß der Faktor MP mit dem Gemisch von Pyrimidin und Thiazol identisch ist. Diese können ohne weiteres neben dem Aneurin vorkommen [SCHOPFER und JUNG (6), SINCLAIR].

Dasselbe gilt für Organismen, die mit Pyrimidin oder Thiazol allein auskommen. Hier wirkt Aneurin als Wachstumsfaktor, und eine der Komponenten allein stellt den Faktor M dar.

Für den Beweis, daß diese Faktoren nebeneinander bestehen, ist eine Behandlung mit Natronlauge unerlässlich. Es ist seit langem bekannt, daß dadurch das Aneurin in kurzer Zeit vollständig zerstört wird. Ohne Laugenbehandlung erhalten wir z. B. für *Phycomyces* oder für jeden anderen Organismus dieser Gruppe die Gesamtwirkung der Wachstumsfaktoren (Aneurin + PT). Nach zweckmäßiger Laugenbehandlung und Neutralisation bleibt nur noch die Wirkung, die dem Faktor M, d. h. dem Gemisch von Pyrimidin und Thiazol zugeschrieben werden muß.

H. Der thermische Abbau des Aneurins.

Schon bei unseren ersten Untersuchungen über die Wirkung des Aneurins (1934) haben wir die auffällige Tatsache hervorgehoben, daß — entgegen den Angaben aus der Tierphysiologie — eine längere Behandlung im Autoklav (6 Stunden bei 130°) die Vitaminwirkung nicht beeinträchtigte (vgl. auch GREWE, WILLIAMS und SPIES). Diese Tatsache wurde seither oft beobachtet. Die Wirkung der Autoklavierung schien indessen nicht immer gleich zu sein. Oft wurde die Wirkung der Wachstumsfaktoren teilweise zerstört, oft blieb sie erhalten. Diese Erscheinungen konnten durch Untersuchungen, die wir mit W. F. MÜLLER zusammen ausführten, teilweise geklärt werden.

Im Laufe der Autoklavierung verschwindet allmählich die Aneurinreaktion [Azoformoltest nach KINNERSLEY und PETERS, Thiochromtest nach JANSEN (2)]. Nach längerer Behandlung des Aneurins bei 125° machte sich in der ursprünglich geruchlosen Lösung ein charakteristischer „Hefegeruch“ bemerkbar, der demjenigen des Thiazols entspricht. ROBBINS und KAVANAGH (6) machten eine ähnliche Beobachtung. Nach Einwirkung der Hitze bleibt die Lösung für *Phycomyces* und *Ustilago* aktiv (PT-Organismen). Ebenso bleibt die fördernde Wirkung auf die P-Organismen (*Rhodotorula rubra* und *Dematium nigrum*) sowie auf T-Organismen (*Mucor Ramannianus*) erhalten.

Ein Chloroformauszug dieser autoklavierten Lösung ergibt ein Produkt, das auf *Mucor Ramannianus* fördernd wirkt, nicht aber auf *Phycomyces*, *Ustilago*, *Rhodotorula rubra* und *Dematium nigrum*, als ob nur das in Chloroform lösliche Thiazol vorhanden wäre. Der Rest der mit Chloroform behandelten Lösung ist für die Pyrimidinorganismen (*Rhodotorula* und *Dematium*) aktiv. Dagegen wirkt dieses Produkt nicht auf *Phycomyces* und *Ustilago*. Fügt man aber diesem Rest noch Thiazol

bei, so erzielt man auch bei *Phycomyces* ein gutes Wachstum; dasselbe wird erreicht, wenn dieser Pilz neben dem Chloroformextrakt noch Pyrimidin erhält. Gestützt auf diese Tatsachen kann man folgende Hypothese aufstellen: Durch Einwirkung von Hitze wird das Aneurin in seine Komponenten Pyrimidin und Thiazol gespalten. Durch Chloroform kann nach der Autoklavierung das Thiazol ausgezogen werden.

Nach dieser Behandlung erhalten wir einerseits eine Lösung, die das Thiazol enthält, und andererseits einen Rest, in dem nur noch das Pyrimidin gelöst ist. Alle beobachteten Wirkungen dieser Lösungen auf verschiedene Organismen stehen mit dieser Annahme gut in Einklang. Wir haben allerdings noch keinen chemischen Beweis für das Vorkommen dieser beiden Substanzen, die nun isoliert werden sollten.

Dagegen ist bei dieser Annahme leicht verständlich, daß nach erfolgter Autoklavierung eine Laugenbehandlung keinen Einfluß mehr hat. Die Produkte, die durch die Hitzebehandlung des Aneurins entstanden sind, sind thermostabil und laugebeständig. Man kann deshalb ohne weiteres sagen, daß durch die Einwirkung der Hitze aus dem Aneurin der thermostabilere Faktor M entstanden ist.

Wir haben auch beobachtet, daß sich schon bei der gewöhnlichen Sterilisation der Nährlösung im Autoklav ein beginnender Zerfall des Aneurins geltend macht, der allmählich zunimmt. Dieser Faktor muß bei Arbeiten mit Organismen, für die man eine Förderung durch Aneurin (ganzes Molekül) vermutet, berücksichtigt werden. Erfolgt in Nährlösungen, die lange sterilisiert wurden, kein Wachstum, so läßt sich daraus noch nicht der Schluß ziehen, daß Aneurin unwirksam ist, wohl aber, daß der Organismus mit den entstandenen Abbauprodukten nicht auskommt.

Als Folge der Untersuchungen von READER (1 bis 4) über *Streptothrix corallinus*, dessen Entwicklung zum Teil vom Aneurin abhängig zu sein scheint (es wurde ein Torulinpräparat von PETERS verwendet), wurde dieser Mikroorganismus als Test für das Vitamin B₁ vorgeschlagen [ORR- EWING und READER (1)]. Nun beobachteten PETERS, KINNERSLEY, ORR- EWING und READER, daß eine Hitzebehandlung in schwach alkalischer Lösung die Wirksamkeit der Substanz auf das Tier (Tauben) zerstörte, auf *Streptothrix* aber nicht. Der vorgeschlagene Test erschien also unzuverlässig, und es wurde angenommen, daß der *Streptothrix*-Faktor nicht identisch sei mit dem Aneurin.

PETERS (1) äußerte zwar die Vermutung, daß der Pilz imstande sei, das behandelte Aneurin zu „reaktivieren“. Im Zusammenhang mit den hier mitgeteilten Tatsachen käme man eher zur Annahme, daß Aneurin in seine auf das Tier unwirksamen, aber auf *Streptothrix* vielleicht aktiven Bestandteile gespalten worden wäre¹. Ein genügend konzentriertes Alkali kann die Aktivität des Thiazolanteils zerstören, das Pyrimidin hingegen bleibt wirksam (s. WILLIAMS und SPIES, S. 164).

¹ SAKURAI behauptet, daß *Aspergillus oryzae* imstande sei, das „durch Alkali zerstörte Aneurin in ursprünglicher Form zu rekonstruieren“! Dies

Die Inaktivierung des Aneurins im Tiertest durch Hitze- und schwache Laugebehandlung unter Beibehaltung der Wirksamkeit auf Mikroorganismen tritt also zutage:

1. bei den *Mucorineen*, von denen man weiß, daß sie auf Aneurinbestandteile reagieren;
2. bei *Streptothrix corallinus*, bei dem die Wirkung der Aneurinbestandteile vermutet wird,
3. bei der Gärung durch *Saccharomyces cerevisiae* (s. S. 116), wo ebenfalls das Aneurin durch Pyrimidin allein ersetzt werden kann.

VI. Allgemeines über die Wirkung des Aneurins.

A. Wirkungsweise des Aneurins.

Seit langem wurde festgestellt, daß das Aneurin beim Tier eine Rolle im Stoffwechsel des Kohlenstoffes spielen müsse. Durch die Untersuchungen von LOHMANN und SCHUSTER wurde dies auch festgestellt. Nach den engen Beziehungen, die zwischen der aktiven Aneurindosis und dem Stickstoffgehalt der Nährlösung zu bestehen schienen, wurde unter allen Vorbehalten die Hypothese aufgestellt [SCHOPFER (18)], daß das Aneurin in den Stoffwechsel des Stickstoffes eingreifen könnte (die wirkliche Bedeutung des Aneurins war damals noch nicht bekannt). Diese Hypothese konnte aber weder in vivo noch in vitro bestätigt werden. Es konnte z. B. kein Einfluß auf die Wirkung der Asparaginase nachgewiesen werden. Wir möchten nur auf die auffallende und exakte Parallelität zwischen Aneurin- und Asparaginwirkung hinweisen (s. S. 31). Dieser mögliche indirekte Effekt des Aneurins bedarf noch weiterer Untersuchungen.

Um die Wirkung des Aneurins zu erfassen, muß an die Ergebnisse der Tierphysiologie erinnert werden. Man weiß, daß bei avitaminotischen Tieren (B_1) oft eine Anhäufung von Brenztraubensäure auftritt. Dieser Stoff ist ein Zwischenprodukt der Glykolyse. Durch Decarboxylierung entsteht aus Brenztraubensäure Azetaldehyd und CO_2 . Mit dieser Decarboxylierung steht nur das Aneurin in Beziehung.

LOHMANN und SCHUSTER (1, 2) extrahierten aus Hefe eine weitgehend gereinigte Cocarboxylase. Unter bestimmten Bedingungen (Anwesenheit von Mg, p_{H} 6,2) bewirkt diese eine intensive Decarboxylierung. Nach 90 Minuten bildeten sich mit 3γ Cocarboxylase in Gegenwart von Hefeextrakt 750 ccm CO_2 gegenüber 60 ccm in den Kontrollen.

Diese Cocarboxylase hat 2 Atome Phosphor, die als Phosphorsäure esterartig gebunden sind. Die Grundsubstanz entspricht genau dem erscheint wohl ohne weiteres verständlich, wenn man bedenkt, daß *A. oryzae* auxo-autotroph ist: Durch Laugebehandlung wird der Thiazolanteil zerstört, kann aber neu synthetisiert werden und mit dem noch vorhandenen Pyrimidin zur Aneurinbildung führen.

Aneurin, so daß man sich die Cocarboxylase als Pyrophosphorsäureester des Aneurins vorstellen kann [s. auch LIPSCHITZ, POTTER und ELVEHJEM (1, 2)].

Das Aneurin selber ist als Cocarboxylase unwirksam. Diese letztere Substanz hat nur eine geringe vitaminische Wirkung (im kurativen Taubentest).

Im Tierkörper, bei Ratte, Kaninchen und Taube, scheint die Phosphorylation besonders in der Leber schnell vor sich zu gehen (GOUDSMIT und WESTENBRINK).

Auf enzymatischem Wege ist die Synthese der Cocarboxylase möglich (EULER und VESTIN). In Gegenwart von Pyruvaten findet sie sehr rasch statt [LIPSCHITZ, POTTER und ELVEHJEM (3)].

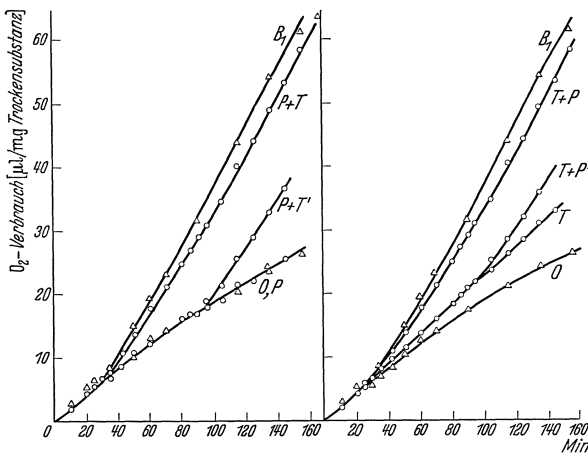


Abb. 37. O_2 -Verbrauch von *Staphylococcus aureus*. Wirkung des Aneurins und seiner Komponenten. Phosphat, pH 7,6, M/30. Pyruvat M/40. O Kontrolle, P Pyrimidin, beigefügt nach 28 Minuten, P' Pyrimidin nach 88 Minuten, T Thiazol nach 28 Minuten, T' Thiazol nach 88 Minuten, B₁ Aneurin nach 28 Minuten. (Nach HILLS 1938.)

In den tierischen Geweben soll das Aneurin fast vollständig in Form von Cocarboxylase vorhanden sein [LIPMANN (2)]. In Pflanzen dagegen (TAUBER) ist nur ein kleiner Anteil des Vitamins als Pyrophosphorsäureester vertreten.

Eingehende Untersuchungen mit *Staphylococcus aureus* (HILLS) zeigten dieselben Beziehungen zwischen Aneurin und Brenztraubensäure. KREBS hatte schon 1937 nachgewiesen, daß *Staphylococcus* in einer natürlichen Nährlösung, die reich an Aneurin war, eine anaerobe Umsetzung von Salzen der Brenztraubensäure in Lactate, Azetate und CO_2 bewirken kann [s. auch LIPMANN (3)].



HILLS untersuchte den Sauerstoffverbrauch von *Staphylococcus*-Kulturen in einer Nährlösung mit Salzen der Brenztraubensäure. Ohne B₁ oder mit suboptimalen Dosen ist der Sauerstoffverbrauch gering. Er wird dagegen durch Zusatz von Aneurin oder Pyrimidin plus Thiazol

stark erhöht. Einzelne sind beide Komponenten unwirksam. Ohne Zusatz von Aneurin findet eine Anhäufung der Salze der Brenztraubensäure statt (1.), und die Absorption von O₂ ist schwach. Die Sauerstoffaufnahme wird durch die Oxydation der Milchsäure (2.) bedingt:

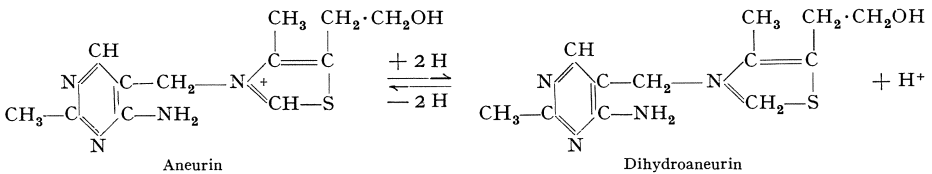
1. $2 \text{CH}_3\text{CO} \cdot \text{COOH} + \text{H}_2\text{O} = \text{CH}_3\text{CHOH} \cdot \text{COOH} + \text{CH}_3\text{COOH} + \text{CO}_2$.
2. $\text{CH}_3\text{CHOH} \cdot \text{COOH} + \text{O}_2 = \text{CH}_3\text{COOH} + \text{H}_2\text{O} + \text{CO}_2$.

Die Tatsache, daß in Aerobiose wie in Anaerobiose die Anwesenheit beider Komponenten des Aneurins notwendig ist, stimmt mit den früher erwähnten Ergebnissen, wonach für die Entwicklung dieses Bakteriums beide Bestandteile des Aneurins benötigt werden, überein. Eine besondere Bedeutung kommt der freien Aminogruppe in Stellung 4 zu. Wir wissen, daß die fördernde Wirkung durch jede Substitution in dieser Stellung zerstört wird (vgl. S. 78).

Dagegen nimmt LIPMANN (1, 2, 4) einen anderen Mechanismus an: *Bacillus Delbrückii*, ein Organismus, der nicht imstande ist, die Decarboxylierung der Brenztraubensäure durchzuführen, bewirkt die Dehydrierung (Azetonextrakte der Bakterie) mit Hilfe einer Dehydrase. Diese besteht aus einem kolloidalen Träger und einer Codehydrase, wobei die letztere mit der Cocarboxylase von LOHMANN als identisch zu betrachten wäre.

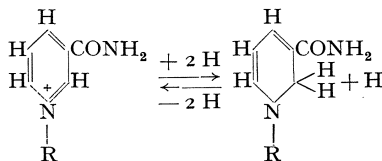
Mit dieser Dehydrase gelingt die Spaltung der Brenztraubensäure in Azetaldehyd und CO₂ nicht. Dies wird von LIPMANN darauf zurückgeführt, daß der kolloidale Träger nicht gleicher Natur ist wie derjenige des decarboxylierenden Enzyms der Hefe. Die Rolle eines Wasserstoffüberträgers kommt hier dem Aneurin zu:

Dies kann dieses auf folgende Weise zustande kommen:



ERLENMEYER und Mitarbeiter machten ähnliche Beobachtungen mit einer Thiazolverbindung bei Verwendung von Platinmohr oder Hydrosulfit.

Diese Erscheinung zeigt eine starke Analogie mit der Reduktion des Coenzym von WARBURG und CHRISTIAN (Phosphorpyridinnukleotid) oder mit dem Modell von KARRER und WARBURG (Nicotinsäureamid-methyldid):



Bei diesem Vorgang erhält der Wasserstoff in Stellung 2 des Thiazols, wie auch das N-Atom eine besondere Bedeutung. Wir wissen, daß eine Substitution an dieser Stelle die Wirkung als Wachstumsfaktor aufhebt.

Trotz der Verwandtschaft zwischen dem decarboxylierenden und dem dehydrierenden Enzym glaubt LIPMANN doch nicht, daß die Decarboxylierung eine Vorstufe der Dehydrierung darstelle.

Obwohl der Mechanismus der Aneurinwirkung noch nicht restlos abgeklärt ist, müssen wir annehmen, daß dieses Vitamin als Coenzym der Carboxylase [LOHMANN (1, 2)], einer Dehydrase [LIPMANN (2)] und wahrscheinlich einer anaeroben Dismutase (KREBS) sowie einer Brenztraubensäureoxydase [(PETERS (2, 3, 4))] funktioniert.

Drei dieser Funktionen sind für Mikroorganismen nachgewiesen, nämlich die einer Codehydrase (für *Bacillus Delbrückii*), einer Cocarboxylase (Hefe und *Staphylococcus aureus*) und eines Coenzym der Dismutase (für *Staphylococcus*).

Es ist nicht ausgeschlossen, daß das Aneurin auch in andere Prozesse eingreift.

Das Aneurin greift also in allgemeine Lebensvorgänge ein, was mit seiner weiten Verbreitung im Einklang steht.

B. Der Aneurinstoffwechsel.

Aus der Tatsache, daß einerseits das veresterte Aneurinmolekül als Cocarboxylase funktioniert, daß es aber andererseits Organismen gibt, die sich mit den getrennten Komponenten des Aneurins begnügen, ergeben sich interessante Probleme. Zunächst fragt es sich, ob bei Organismen, wie z. B. *Phycomyces*, das Aneurin aus seinen Bestandteilen neu synthetisiert wird. Wie verhalten sich die verschiedenen Typen in dieser Beziehung?

1. Aneurinorganismen.

Hier stellt sich diese Frage überhaupt nicht, da das ganze Molekül aufgenommen und in die lebende Materie des Organismus einverleibt werden muß.

2. Pyrimidin-Thiazolorganismen.

Wir wissen, daß ein Extrakt aus *Phycomyces*-Myzel, das in Anwesenheit von Pyrimidin und Thiazol gewachsen ist, eine andere Kultur desselben Pilzes aktivieren kann (s. S. 28). Das beweist noch nicht, daß im Thallus von *Phycomyces* eine neue Synthese des Aneurins stattgefunden hat, da ja der Pilz in der Kultur nicht das ganze Molekül benötigt. Dasselbe gilt für die fördernde Wirkung solcher Extrakte auf andere Organismen, wie *Dicranophora fulva* [SCHOPFER (10), *Ustilago violacea* usw.]. Damit ist nur sichergestellt, daß die beiden Komponenten P und T im Thallus von *Phycomyces* vorhanden sein müssen. Dies geht aus der Tatsache hervor, daß ein *Phycomyces*-Extrakt auf Pyrimidin- oder Thiazolorganismen wirksam ist.

Zur Entscheidung dieser Frage bleibt nur die direkte Analyse des Myzels übrig. Mit Hilfe des Rattentestes [SCHOPFER und JUNG (3)] war es selbst mit hohen Gaben getrockneten Myzels nicht möglich, irgendeine B₁-vitaminische Wirkung festzustellen. Das scheint darauf hinzuweisen, daß der Thallus überhaupt nicht das ganze Aneurinmolekül enthält. Trotzdem sollte man erwarten, daß wenigstens die in der Nährlösung vorhandene Vitaminmenge (0,5 γ) im Thallus des Pilzes vorhanden sein müßte. Allerdings könnte geltend gemacht werden, daß dieses Aneurin im Thallus in Form der Cocarboxylase aufgespeichert wäre. Diese Form ist für das Tier viel weniger wirksam als das Aneurin.

Ebenso führte eine direkte Analyse mit Hilfe der Thiochrommethode zu keinem Resultat. Dies ist vielleicht darauf zurückzuführen, daß mit dieser Methode so kleine Aneurinmengen überhaupt nicht erfaßt werden können. Dagegen kann die Cocarboxylase mit dieser Methode nachgewiesen werden.

Wir haben folgende indirekte Methode angewandt: In einem *Phycomyces*-Extrakt, dessen aktivierende Wirkung auf denselben Pilz festgestellt war, wurde das vermutete Aneurin durch Laugenbehandlung im Autoklav zerstört. Nach erfolgter Neutralisation wurden die so behandelten Extrakte wie auch die unbehandelten Auszüge den Nährlösungen zugesetzt. Die Ergebnisse zeigten, daß durch Laugenbehandlung nur ein Teil der Wirkung (30—50%), in keinem Falle aber die gesamte aktivierende Wirkung, verloren geht. Das Alter der verwendeten Myzelien spielte dabei keine ausschlaggebende Rolle. Gleiche Resultate ergaben Extrakte aus Sporen. Die Kulturen mit Aneurin (ganzes Molekül) oder mit dem Gemisch von Pyrimidin plus Thiazol zeigten in dieser Hinsicht keine bedeutenden Unterschiede.

Alle diese Beobachtungen deuten darauf hin, daß in den Myzelien und in den Sporen andere thermostabile Wachstumsfaktoren vorhanden sein könnten. In diesem Falle müßte man an den Faktor M denken (Pyrimidin plus Thiazol). Es wäre anzunehmen, daß der Pilz aus einem Gemisch von Pyrimidin und Thiazol nur einen Teil zu Aneurin synthetisiert. Hat der Pilz Aneurin zur Verfügung, so müßte vor der Absorption eine Hydrolyse stattfinden. Nur ein Teil der entsprechenden Komponenten würde nachher wieder zu Aneurin resynthetisiert.

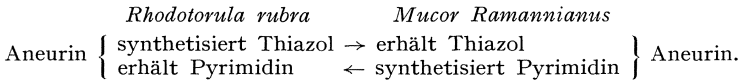
Diese Frage bleibt ungelöst. BONNER und ERICKSON, die sich auf unsere Untersuchungen beziehen, bemerken, daß auch sie die Resynthetisierung des Aneurins nicht nachweisen konnten¹.

Auch HILLS erwägt die Möglichkeit einer Spaltung des Aneurinmoleküls und einer getrennten Verwendung der beiden Bestandteile. Die decarboxylierende Wirkung von Pyrimidin + Thiazol äußert sich jedoch erst nach Ablauf einer bestimmten Zeitspanne, während der nach HILLS die Synthese des Aneurins stattfinden muß.

¹ Immerhin konnten wir letzthin mit dem *Phytophthora cinnamomi*-Test (Aneurinpilz!) — beweisen, daß in den Thalli von *Phycomyces* und *Ustilago violacea* (kultiviert auf P + T), von *Rhodotorula rubra* (kultiviert auf P) und von *Mucor Ramannianus* (kultiviert auf T) nachweisbare Mengen von Aneurin vorhanden sind (unveröffentlicht).

3. Die Pyrimidin- oder Thiazolorganismen.

Hier liegen die Verhältnisse ganz anders. Die Tatsache, daß *Rhodotorula* mit Pyrimidin oder *Mucor Ramannianus* mit Thiazol allein auskommt, kann nur mit der Annahme erklärt werden daß diese Organismen, die andere Komponente des Aneurins selber zu synthetisieren vermögen. Dieses wurde durch die Untersuchungen von W. F. MÜLLER und SCHOPFER bewiesen. *Rhodotorula rubra* und *Mucor Ramannianus* wurden zusammen auf synthetischen Nährböden ohne Zusatz von Wachstumsfaktoren kultiviert. Unter bestimmten Versuchsbedingungen entwickelten sich die beiden Pilze zusammen und bildeten eine künstliche Symbiose. *Mucor Ramannianus* muß von *Rhodotorula* das ihm fehlende Thiazol erhalten haben, und umgekehrt lieferte *Mucor Ramannianus* das für die Entwicklung von *Rhodotorula* notwendige Pyrimidin. Diese Wechselbeziehungen können schematisch in folgender Weise dargestellt werden:



Jeder Organismus hat also damit beide Komponenten des Aneurins zur Verfügung.

Weitere Beweise lieferten die Versuche mit Extrakten aus Organismen, die sich mit Zusatz der einen Komponente entwickelt hatten (z. B. *Rhodotorula* mit Pyrimidin). Mit solchen Extrakten konnte die Entwicklung von P + T-Organismen, *Phycomyces* und *Ustilago violacea*, gefördert werden. In gleicher Weise wirkten auch Extrakte von *Mucor Ramannianus* aktivierend auf *Phycomyces* (W. F. MÜLLER). Diese Tatsachen können nur mit der Annahme erklärt werden, daß die Komponente, die in der Nährlösung der P- oder T-Pilze nicht vorhanden war, durch diese Organismen selbst synthetisiert wurde.

Ähnliche Beobachtungen machten ROBBINS und KAVANAGH (2), die *Phycomyces* (Pyrimidin + Thiazol-Organismus) auf gebrauchten Nährlösungen verschiedener *Torula*-Arten kultivierten, was allerdings nach unserer Ansicht weniger beweisend ist als die Versuche mit Pilzextrakten.

Es konnte so gezeigt werden, daß *Torula Hansen*, die ohne Zugabe von Wachstumsfaktoren gedeiht, Pyrimidin und Thiazol synthetisiert. *Torula sphaerica* synthetisiert eine kleine Menge Pyrimidin und sehr wenig Thiazol. *Torula sanguinea* und *Torula rosea* (wie *Rhodotorula rubra* Pyrimidinorganismen) bauen genügend Thiazol auf, um die Entwicklung von *Phycomyces* auszulösen. Dagegen ergibt sich mit gebrauchten Nährlösungen von *Torula Laurentii*, die Pyrimidin plus Thiazol benötigt, nur eine schwache Entwicklung von *Phycomyces*. Möglicherweise spielen dabei hemmende Substanzen, die von der Hefe gebildet werden, eine Rolle (vgl. OKUNUKI).

Weitere Beweise für diese Tatsache wurden von ROBBINS und KAVANAGH (2) erbracht. Sie benützten Nährlösungen, in denen z. B. *Pythium Butleri*, das sich mit Pyrimidin allein begnügt, gewachsen war. In solchen Nährlösungen entwickelte sich *Phycomyces* sehr gut. Dies

beweist, daß die in der Nährlösung nicht vorhandene Komponente des Aneurins, hier das Thiazol, durch diese Pilze synthetisiert worden ist und dann in die Nährlösung hinausdiffundierte (Abb. 38). Solche Versuche setzen natürlich voraus, daß in den gebrauchten Nährlösungen keine hemmenden Substanzen vorhanden sind, die einen "staling effect" im Sinne von BROWN hervorrufen können. Solche Stoffe werden allerdings durch die Sterilisation meistens zerstört.

Die Frage des Synthese der einzelnen Komponenten des Aneurins kann somit als gelöst gelten. Einer besonderen Erklärung bedarf immerhin

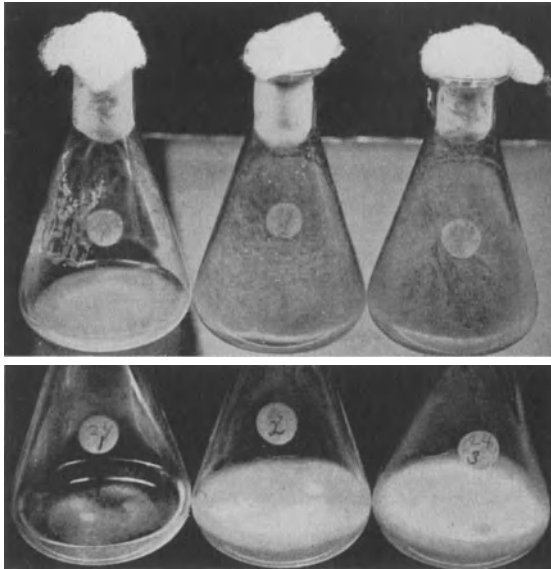


Abb. 38. Unten von links nach rechts: *Pythium Butleri* auf Grundlösung + Thiazol, + Pyrimidin, + PT. Oben *Phycomyces* auf denselben gebrauchten Nährlösungen. [Nach ROBBINS und KAVANAGH (7).]

der Fall von *Parasitella simplex* und *Absidia ramosa*. Die unvollkommene Entwicklung mit Pyrimidin, auch in starken Dosen, könnte auf einer ungenügenden Thiazolsynthese beruhen [SCHOPFER (22, 23)]. Man könnte aber auch annehmen, daß diese Pilze die Fähigkeit, die beiden Komponenten (synthetisiertes Thiazol und dargebotenes Pyrimidin) zum Aneurinmolekül zu kondensieren, nur noch in beschränktem Maße besitzen. In diesem Fall wären diese Mikroorganismen als Verbindungsglieder zwischen den Typen *Phycomyces* und *Rhodotorula rubra* aufzufassen. Noch nicht erwiesen ist aber, ob diese Organismen das gesamte Aneurinmolekül aufzubauen vermögen. Wir sind aber gezwungen, diese Annahme aufrecht zu erhalten, und zwar nicht nur aus Gründen der Analogie, sondern hauptsächlich im Hinblick auf die Wirkung des Aneurins als Carboxylase, für die beide Komponenten notwendig sind.

Es müßte noch festgestellt werden, warum der Nachweis des Aneurins bis jetzt nicht gelang (maskiertes oder gebundenes Aneurin oder Unzulänglichkeit der Methoden für den Nachweis?). Es scheint uns, daß dieser Nachweis mit Organismen, die das ganze Aneurinmolekül benötigen und die sehr empfindlich darauf reagieren (*Glaucoma* und verschiedene *Phytophthora*-Arten) möglich sein sollte (siehe S. 89).

Ob wir also die partielle Synthese einer Komponente oder die totale Synthese des Aneurinmoleküls betrachten, in jedem Falle können wir von einem Stoffwechsel des Aneurins sprechen.

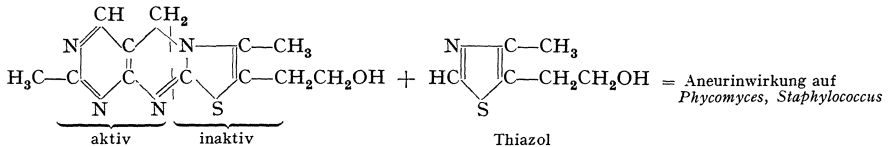
4. Absorption und Hydrolyse des Aneurins.

Es stellen sich hier ähnliche Probleme wie bei der Synthese [SCHOPFER (23)]. Bei *Glaucoma*, wo das Aneurinmolekül absorbiert wird, ist keine Hydrolyse notwendig. Anders liegen die Verhältnisse bei einem P- oder T-Organismus, der das ganze Aneurinmolekül erhält. Für *Rhodotorula* z. B. muß eine Hydrolyse des Aneurins, wobei Pyrimidin und Thiazol frei werden, hierauf eine getrennte Absorption dieser Substanzen und ihre Kondensation zum Aneurinmolekül angenommen werden.

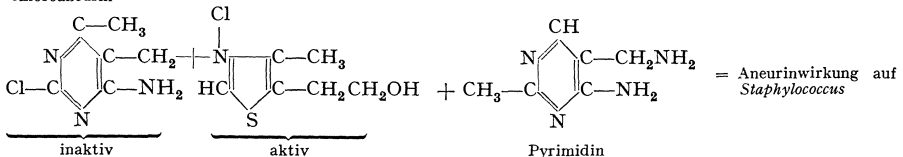
Man könnte immerhin auch vermuten, daß in den Fällen, wo in der Nährlösung Aneurin zur Verfügung steht, dieses ohne Schwierigkeit als Ganzes absorbiert werden könnte. Dabei würde das in den Zellen von *Rhodotorula* vorhandene Thiazol überhaupt nicht in den Aneurinstoffwechsel einbezogen. Es wäre damit eine Hydrolyse und eine Kondensation erspart.

Es muß ferner eine Hydrolyse angenommen werden, wenn ein PT-Organismus, wie *Phycomyces*, *Staphylococcus aureus* oder *Polytomella caeca* aus einem inaktiven Aneurinanalogue die wirksame Komponente entnimmt und aus dieser mit Verwendung der in der Nährlösung vorhandenen zweiten Komponente das Aneurin synthetisiert. Beispiele dieser Art sind Benzyl-thiazol + Pyrimidin für *Phycomyces*, Chloroaneurin + Pyrimidin für *Staphylococcus* (KNIGHT und MCLLWAIN), aber nicht für *Phytophthora* (ROBBINS), Thiochrom und Thiazol für *Phycomyces* und *Staphylococcus*, 4-Methyl-N-[2-methyl-4-aminopyrimidyl-(5)]-methylthiazol + Pyrimidin für *Staphylococcus* und Flagellaten (s. S. 77 ff.).

Thiochrom



Chloroaneurin



Schwieriger ist eine Erklärung in den Fällen, wo das Thiochrom verwendet werden kann (s. BARGER und Mitarbeiter). Dieses dient für *Phycomyces* und *Staphylococcus* als Pyrimidinquelle. Man muß hier folgende Spaltungen annehmen: $-\text{CH}_2-\text{N}-$ und $-\text{C}-\text{N}=\text{C}$ und die Wiederherstellung eines aktiven Pyrimidins mit seiner NH_2 -Gruppe in Stellung 4.

Unter der Voraussetzung einer möglichen Enzymwirkung (Aneurinase) haben wir eine Hydrolyse in vitro mit Hilfe eines *Phycomyces*-Extraktes versucht. Die Ergebnisse waren negativ [SCHOPFER (23)].

Diese Fragen des Aneurinstoffwechsels werfen verschiedene Probleme auf, die mit feineren Methoden gelöst werden müssen.

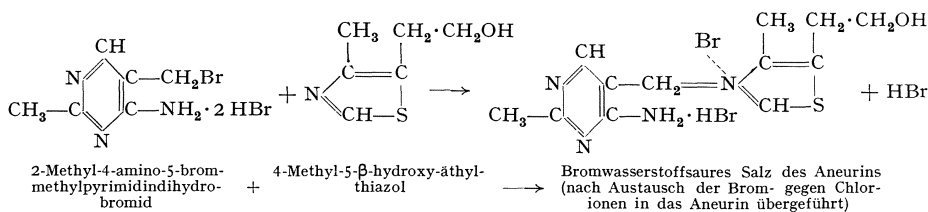
Zusammenfassend kann gesagt werden, daß eine Synthese des Aneurins angenommen werden muß, und zwar aus folgenden Gründen:

1. Weil nur dem ganzen Aneurinmolekül eine Wirkung als Cocarboxylase zukommt.
2. Weil die beiden Komponenten, die das Aneurin im Bereiche der optimalen Dosis ersetzen, in äquimolekularer Konzentration wirken. Es ist ferner mit einer möglichen intra- oder extrazellularen Hydrolyse des Aneurins oder der analogen Verbindungen zu rechnen.

C. Biosynthese des Aneurins.

Die in den letzten Kapiteln aufgeworfenen Fragen erlauben uns, an das sehr wichtige Problem der Biosynthese des Aneurins heranzutreten. Dabei können uns die auxo-heterotrophen Organismen wertvolle Aufschlüsse geben über die Vorgänge, die sich in auxo-autotrophen Lebewesen bei der Bildung des Aneurins abspielen [SCHOPFER (23)]. Wir sind für die Biosynthese nicht notwendigerweise auf die Wege der chemischen Synthese angewiesen. Immerhin scheint es für das Aneurin wahrscheinlich, daß beide Wege einigermaßen übereinstimmen.

In vitro entsteht das Aneurin durch die Kondensation von:



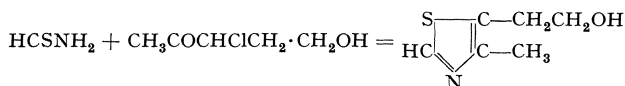
Das Pyrimidin des Aneurins sowie seine wirksamen Substitutionsprodukte besitzen in Stellung 5 eine Wirkungsgruppe, z. B. CH_2Br , die die Kondensation ermöglicht (Synthese von ANDERSAG-WESTPHAL, R. R. WILLIAMS und CLINE).

Alle bei den PT-, T- oder P-Organismen erwähnten Tatsachen sprechen zugunsten dieser Biosynthese.

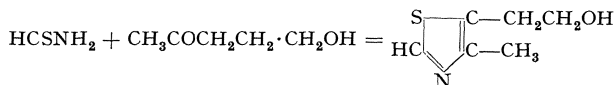
Neue Stufen der Biosynthese nehmen BONNER und BUCHMAN bei ihren Untersuchungen mit *Pisum*-Wurzeln, die Pyrimidin + Thiazol benötigen, an.

Das 2-Methyl-4-amino-5-thioformylaminomethyl-pyrimidin führt mit den Derivaten von Azetopropylalkohol zu einer Synthese des Aneurins in vitro, aber nicht in vivo. Dagegen ist die Wurzel von *Pisum* imstande, das Thiazol aus diesen einfachen Substanzen zu synthetisieren.

Die Reaktion: Thioformamid + Chlorazetopropylalkohol führt in vitro zu einer Synthese des Thiazols. BONNER und BUCHMAN zeigten, daß sie bei der Wurzel von *Pisum* auch in vivo in gleicher Weise vor sich geht.



Dagegen führte die Reaktion: Thioformamid + Acetopropylalkohol wohl in vitro, aber nicht in vivo, zur Bildung von Thiazol.



Ferner ist das Wachstum von *Pisum*-Wurzeln mit Thiazolen möglich, die für *Phycomyces* unwirksam sind (z. B. in Stellung 5, $-\text{CH}=\text{CH}_2$, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SH}$, s. S. 78). Aber eine Wurzel, die mit diesen Substitutionsprodukten gewachsen ist, vermag die Entwicklung von *Phycomyces* nicht auszulösen. In diesem Fall muß man annehmen, daß in der *Pisum*-Wurzel keine Umwandlung des für *Phycomyces* inaktiven Thiazols in ein aktives erfolgen kann. Es müßte sich folglich in der Wurzel eine aneurinähnliche Substanz bilden mit analogen physiologischen Eigenschaften.

Die Umwandlung der inaktiven in aktive Komponenten, die wir postuliert haben, scheint nicht eine allgemeine Erscheinung zu sein.

BONNER nimmt die Wirkung synthetisierender Enzyme: Thiaminase (Aneurinase), Thiazolase an, die stufenweise zur Synthese des Aneurins führen. Dies wurde bei *Pisum* durch eine *Phytophthora*-Art nachgewiesen, die nur auf das ganze Aneurinmolekül reagiert. Diese Enzyme wirken spezifisch. Ein aktives Thiazol, das nicht als Substrat für die Aneurinase dienen kann, muß zuerst durch Desaminierung, Decarboxylierung, Hydrolyse und Hydratation transformiert werden.

Über die Synthese des Thiazols durch Mikroorganismen ist noch nichts bekannt; es scheint jedoch nicht unmöglich, daß sie in gleicher Weise vor sich geht wie bei *Pisum*. Immerhin haben vorläufige Versuche gezeigt, daß dies für *Phycomyces*, *Ustilago violacea* und *U. scabiosae* nicht zutrifft (SCHOPFER, unveröffentlicht).

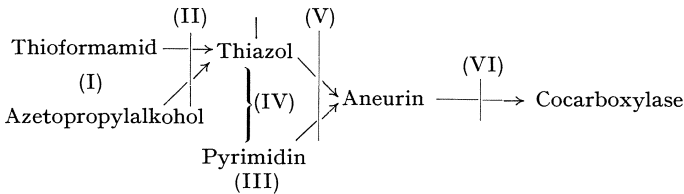
Auf alle Fälle kann gesagt werden, daß das Problem der Wachstumsfaktoren auf eine exaktere Basis gestellt wird, wenn man einmal dazu

gelangt, die Natur und das Vorkommen synthetisierender Enzyme festzustellen. Das Bedürfnis nach präformierten Wachstumsfaktoren könnte dann nicht nur auf das Fehlen bestimmter Stoffe, wie das Vitamin B₁, sondern auch auf den Mangel eines oder mehrerer der für die Bildung dieser Vitamine notwendigen Enzyme zurückgeführt werden.

D. Das Aneurinbedürfnis und das Prinzip der abgestuften Heterotrophie.

Es wurde gezeigt, daß das Aneurinbedürfnis auf einen Verlust des Synthesevermögens zurückzuführen ist, der unabhängig von der systematischen Stellung der Organismen auftritt. Die Tatsache, daß ein scheinbares Aneurinbedürfnis auf ein Bedürfnis nach Thiazol oder Pyrimidin zurückgeführt werden kann, ermöglicht uns, die physiologischen Rückbildungen, die schließlich zur vollständigen Heterotrophie führen, Schritt für Schritt zu verfolgen [SCHOPFER (23)].

Nach den zur Zeit bekannten Tatsachen lassen sich vorläufig folgende Abstufungen feststellen:



1. Verlust des Synthesevermögens für Thioformamin oder Azetopropylalkohol oder beide.
2. Unfähigkeit, diese zwei Substanzen zu einem Molekül Thiazol zu vereinigen.
3. Unfähigkeit, das aktive Pyrimidin herzustellen. Bedürfnis nach dieser Substanz (Typus von *Rhodotorula rubra*).
4. Unfähigkeit, Pyrimidin und Thiazol herzustellen (Typus von *Phycomyces — Staphylococcus*).
5. Unmöglichkeit, Pyrimidin und Thiazol in einem Molekül aktiven Aneurins zu vereinigen (Typus von *Glaucoma*).
6. Eventuelle Unmöglichkeit, das Aneurinmolekül zu Cocarboxylase zu verestern.

Diese verschiedenen Abstufungen, die sich alle in einem scheinbaren Aneurinbedürfnis äußern, können bei fortschreitender Vertiefung der Untersuchungen nachgewiesen werden.

Jede Gruppe von Organismen kann in dieser Beziehung bestimmte Besonderheiten zeigen, die sich in der Befähigung zur Ausführung verschiedener chemischer Umsetzungen äußern. Diese Besonderheiten sind

aber noch wenig bekannt, da erst eine kleine Zahl von Organismen eingehend genug untersucht wurde.

Wird in der wichtigen Stellung 2 des Thiazols, durch die nach LIPMANN die Reduktion der Cocarboxylase erfolgt, eine CH_3 -Gruppe substituiert, so ergibt sich daraus eine Inaktivierung für *Staphylococcus* (KNIGHT und McILWAIN), aber nicht für die Flagellaten [LWOFF und DUSI (5)], die imstande sind, dieses Thiazol zu demethylieren und seine aktive Struktur wieder herzustellen.

Die Anwesenheit einer β -Hydroxypropylgruppe in Stellung 5 des Thiazols im Aneurinmolekül macht dieses für *Phycomyces* unwirksam, nicht aber für die Flagellaten. Diese sind also noch imstande, eine Arbeit zu leisten, zu der *Phycomyces* nicht mehr befähigt ist.

Es muß noch hervorgehoben werden, daß eine verschiedene Reaktion der Organismen gegenüber demselben Substitutionsprodukt auf verschiedene physiologische Möglichkeiten hinweist. Die Tatsache, daß ein Substitutionsprodukt verwertet werden kann, zeigt an, daß es vom Organismus möglicherweise in eine aktive Form, die die Bildung des Aneurins oder der Cocarboxylase ermöglicht, umgesetzt werden kann.

Den extremsten Fall der Degeneration stellt *Glaucoma piriiformis* dar. Diese Flagellate unterscheidet sich nicht vom Typus des höheren Tieres (Ratte). Der Verlust der Fähigkeit, das Pyrimidin mit dem Thiazol zu vereinigen, muß als letzte Stufe der Rückbildung betrachtet werden. Es ist möglich, daß Pyrimidin und Thiazol synthetisiert werden können, daß aber der Organismus nicht die Fähigkeit besitzt, aus den zwei Substanzen das Aneurinmolekül aufzubauen. Dieses muß ihm deshalb in der Nährlösung geboten werden. Die Frage müßte durch weitere Untersuchungen mit Aneurinorganismen (*Glaucoma*; *Phytophthora*) abgeklärt werden.

Diese Tatsachen können vorläufig durch folgendes Schema dargestellt werden. Von links nach rechts zeigt sich eine zunehmende Heterotrophie:

Tabelle 17. Entwicklungsstufen der Aneurinheterotrophie.

Synthetisiert:	Aneurin oder Pyrimidin + Thiazol	Pyrimidin	Thiazol	—	—
verlangt:	—	Thiazol	Pyrimidin	Pyrimidin + Thiaz.	Aneurin
	<i>Abidia orchidis</i>	<i>Mucor Ramannianus</i>	<i>Rhodotorula rubra</i>	<i>Phycomyces</i>	<i>Glaucoma</i> , <i>Phytophthora</i>
	Höhere Pflanze (grüne Teile)	Tomatenwurzel		<i>Pisum</i> -Wurzel	
				Taube	Ratte

»———— zunehmende Heterotrophie —————>

Ob in der Fähigkeit, aus dem Aneurin die Cocarboxylase zu bilden, zwischen den einzelnen Organismen Unterschiede bestehen, ist noch nicht bekannt. Der Vorgang erscheint relativ einfach.

Wir haben also eine Form des Aneurinstoffwechsels, die wir als den pflanzlichen Typus bezeichnen. Die grüne Pflanze synthetisiert ihr Aneurin ohne Schwierigkeiten. Direkt entgegengesetzt ist der Typus des Tieres, der durch eine vollständige Heterotrophie in bezug auf das Aneurin charakterisiert ist. Die hier besprochenen Mikroorganismen stellen die Zwischenglieder dar. Je stärker ausgeprägt der Verlust der Synthesefähigkeit ist, um so mehr nähern sie sich dem Typus des Tieres, der in der Gruppe *Glaucoma* — *Phytophthora* auch erreicht wird.

Entgegen allen Erwartungen gibt es allerdings auch höhere Pflanzen, die wenigstens in gewissen Organen ihr Synthesevermögen teilweise verloren haben. So vermag z. B. nach ROBBINS und BARTLEY die Tomatenwurzel ihr Thiazol nicht mehr zu synthetisieren, wohl aber das Pyrimidin. Thiazol allein kann also das Aneurin ersetzen und ergibt ein vorzügliches Wachstum. Auch die Erbsenwurzel benötigt Aneurin, das aber durch das Gemisch von Pyrimidin und Thiazol ersetzt werden kann (BONNER). Ebenso sind auch die im allgemeinen vollständig heterotrophen Tiere nicht unbedingt auf das ganze Aneurinmolekül angewiesen. Für die Ratte ist dieses notwendig, dagegen kann die Taube mit dem Gemisch der beiden Komponenten auskommen [ROBBINS, BARTLEY, HOGAN and RICHARDSON, E. ABDERHALDEN (2), E. und R. ABDERHALDEN]. Der Grad der Rückbildung ist also für die Taube geringer als für die Ratte, da sie die Stufe V (Vereinigung von P und T) noch selbständig zu überwinden vermag. Wir wissen allerdings noch sehr wenig über diese Verhältnisse. Obschon man leicht geneigt wäre, die höhere Pflanze und das Tier als die beiden gegensätzlichen Typen zu bezeichnen, zeigen die eben erwähnten Untersuchungen doch, daß man auch hier Zwischenstufen erwarten muß, wie sie für die Mikroorganismen nachgewiesen wurden (s. Tabelle 17).

Dieser Funktionsverlust der lebenden Materie kann also in allen Stufen des Tier- und Pflanzenreiches auftreten. Er macht sich besonders da geltend, wo ein Lebewesen oder ein Organ, wie z. B. die Wurzel, heterotroph im allgemeinen Sinne geworden ist oder wenigstens die Tendenz zur Heterotrophie zeigt.

Es ist ferner zu bemerken, daß diese Entwicklung in der Richtung nach der Aneurinheterotrophie irreversibel zu sein scheint. Wir konnten in keinem Falle ein Wiederauftreten eines einmal verlorenen Synthesevermögens beobachten. Dagegen stellten wir bei *Ustilago violacea* im Laufe einer lange andauernden Kultur eher die Tendenz zu einer zunehmenden Heterotrophie fest. Dieser Pilz schien zuerst mit dem Gemisch von Thiazol und Pyrimidin ziemlich gut auszukommen, während in späteren Versuchen nur mit Zugabe des ganzen Aneurinmoleküls eine maximale Entwicklung erreicht wurde.

Wir bezeichnen diese Erscheinung als abgestufte Heterotrophie und fassen sie als einen sukzessiven Verlust einer Funktion auf (Wachstumsfaktoren). Sie entspricht den Funktionsverlusten, die A. LWOFF (1) in bezug auf die Stickstoff- und Kohlenstoffernährung beobachtete. In der Anwendung auf die Wachstumsfaktoren konnte das Prinzip der abgestuften Heterotrophie erstmals für das Aneurin und seine Komponenten durchgeführt werden.

E. Variationen in der Synthesefähigkeit. Einfluß der allgemeinen Ernährungsbedingungen. Einfluß innerer und äußerer Faktoren.

Wir haben den Fall eines vollständigen Verlustes der Synthesefähigkeit erwähnt. Es muß aber bemerkt werden, daß diese auch mehr oder weniger abgeschwächt vorhanden sein kann, oder daß die Synthese einfach verlangsamt wird, wie KNIGHT annimmt. In diesem Falle genügt die Schnelligkeit der Synthese nicht für eine normale Entwicklung und der Organismus ist auf einen Wachstumsfaktor in der Nährlösung angewiesen.

Endlich kann die Synthesefähigkeit von der Zusammensetzung der Nährlösung abhängig sein. In unserer Arbeit von 1935 (13), wo wir die Wachstumsfaktoren definierten, haben wir den Standpunkt begründet, daß man einen Wachstumsfaktor auch dann annehmen muß, wenn es nur eine einzige Kulturbedingung gibt, bei der seine Notwendigkeit zutage tritt. Wir haben dabei vorausgesehen, daß vielleicht durch zukünftige Untersuchungen für einen Organismus, der auf Wachstumsfaktoren angewiesen ist, Kulturbedingungen gefunden werden könnten, unter denen er instande wäre, die Synthese seiner Wachstumsfaktoren selber auszuführen. Unsere Annahme wurde durch die Untersuchungen von FROMAGEOT und TCHANG (2) mit *Rhodotorula sanniei* bestätigt. Dieser Pilz (Pyrimidinorganismus) gedeiht in einer Nährlösung mit einem Zusatz von Glycerin ebenso gut wie in einer Glukosenährlösung mit Pyrimidin als Wachstumsfaktor. Wir konnten diese Beobachtung bestätigen und zugleich nachweisen, daß der Pilz auf Glycerin tatsächlich Pyrimidin synthetisiert. Dies ergibt sich daraus, daß das Extrakt von *Rhodotorula sanniei* eine synthetische Nährlösung für *Phycomyces* aktivieren kann.

Ein ähnlicher Fall wurde von ROBBINS und KAVANAGH (7) beobachtet: *Pythium Butleri* verlangt Pyrimidin als unentbehrlichen Wachstumsfaktor in einer Nährlösung, die neben 0,5% Asparagin und 5% Glukose 16,4 g mineralische Salze im Liter enthält¹. Bei einem Gehalt an

¹ Zusammensetzung der Nährlösungen. Lösung D, etwa 16,4 g Salze pro Liter: MgSO₄·7H₂O 5 g, KH₂PO₄ 10,32 g, Na₂HPO₄ 0,575 g, NH₄NO₃ 0,5 g, Asparagin 5 g, Glukose 50 g, aq. dest. 1000 ccm + 1 ccm HOAGLANDSche Salzmischung. Lösung E, 1,64 g Salze pro Liter: Asparagin 0,5 g, Glukose 20 g pro Liter. Lösung G, 1,64 g Salze pro Liter: Asparagin und Glukose wie bei D.

Salzen von 1,64 g entwickelt sich der Pilz ohne Pyrimidinzusatz. Hier scheint also eine hohe Konzentration der Nährsalze die Synthese des Pyrimidins zu hemmen, die des Thiazols aber nicht. Eine schwächere Verdünnung ermöglicht eine teilweise Pyrimidinsynthese, die aber für eine volle Entwicklung nicht ausreicht.

Es wäre von größtem Interesse, den Pilz allmählich an eine höhere Konzentration der Nährsalze anzugewöhnen, wodurch eine teilweise oder vollständige Synthese des Pyrimidins wieder erreicht werden könnte.

Man könnte theoretisch den Fall annehmen, daß ein Organismus mit der Zeit auf einen Wachstumsfaktor, den er nicht mehr selber synthetisieren muß, verzichten könnte. Ein solcher Fall wurde aber bis jetzt nirgends nachgewiesen. Würden solche Beobachtungen gemacht, so müßte man annehmen, daß Ersatzfunktionen auftreten, indem die Wirkung eines bestimmten Wachstumsfaktors von einer anderen Substanz ausgeübt werden könnte.

Es ist vorauszusehen, daß es auch für andere heterotrophe Organismen (in bezug auf Wachstumsfaktoren) Kulturbedingungen gibt, bei denen eine Zugabe von Wachstumsfaktoren nicht mehr nötig ist. Es wäre ein Ding der Unmöglichkeit, für einen Organismus alle Kulturbedingungen ausfindig zu machen. Wir bleiben deshalb im Gegensatz zu den Ansichten von LWOFF bei unserer ursprünglichen Auffassung: Wenn es auch nur eine einzige Kulturbedingung gibt, unter der das Synthesevermögen verloren geht, so müssen wir unter diesen speziellen Bedingungen einen echten Wachstumsfaktor annehmen.

FRIES versucht, die Organismen nach ihrem Aneurinbedürfnis in vier Kategorien zu gruppieren: Er unterscheidet:

1. nicht aneurinbedürftige Organismen: *Aspergillus niger*.
2. relativ aneurinbedürftig: *Lenzites sepiaria*, *Nectria coccinea*, *Valsa ceratophora*, *Sclerotinia cinerea* und *Penicillium glaucum*.

3. „Unter gewissen Umständen (sehr kleine Aneurinmengen) absolut, unter anderen Umständen (größere Aneurinmengen) relativ aneurinbedürftig.“ *Daedalea unicolor*?

4. Absolut aneurinbedürftig: *Polyporus adustus*, *P. abietinus*, *P. annosus*, *P. benzoïnus*, *Trametes serialis*, *Helvella infula*, *Valsa pini*, *Phytophthora cactorum* sowie die von anderen Autoren festgestellten Arten.

Die erste und vierte Kategorie bedürfen keiner weiteren Erörterung. Die zweite scheint nach dem Schema von FRIES (S. 160) auf eine verlangsamte Synthese hinzuweisen. Durch Zusatz von Aneurin wird einfach die Entwicklung beschleunigt. Auf diese Tatsache hat übrigens schon KNIGHT hingewiesen. Bei der dritten Kategorie scheint es sich um Erscheinungen zu handeln, die, wie FRIES selber zugibt, noch nicht abgeklärt sind.

Zur zweiten und dritten Kategorie müssen wir bemerken, daß es keineswegs sicher ist, ob die beobachteten Unterschiede wirklich auf Variationen im Verlust des Synthesevermögens beruhen.

Alle diese Tatsachen weisen darauf hin, daß das Synthesevermögen der Mikroorganismen und damit ihr Verhalten gegenüber dem Aneurin durch zahlreiche Faktoren beeinflußt werden kann. Wir können unterscheiden:

A. *Innere Faktoren.*

a) Ein Synthesevermögen ist vorhanden, doch reicht es nicht aus, um eine gute Entwicklung zu ermöglichen¹. Es muß in diesen Fällen nachgewiesen werden, daß es sich tatsächlich um einen teilweisen Verlust des Synthesevermögens handelt, der von den äußeren Bedingungen unabhängig ist und deshalb nicht in die Kategorien 2a und b fällt.

Dieser Verlust des Synthesevermögens ist bei den Organismen, die nur noch die eine Komponente des Aneurins benötigen, am deutlichsten ausgeprägt (vgl. S. 60 ff).

B. *Äußere Faktoren.*

1. Faktoren des Milieus.

a) Quantitative Veränderungen in der Nährlösung. Einfluß der Konzentration der mineralischen Salze bei *Pythium Butleri*.

b) Qualitative Veränderungen. Mit einer bestimmten Kohlenstoffquelle, z. B. Glukose, ist die Synthese des Pyrimidins nicht möglich; sie kann aber durch Zusatz von Glyzerin erreicht werden (*Rhodotorula sanniei*).

2. Der Zeitfaktor.

a) Die Synthese ist verlangsamt, ergibt aber bei genügend langer Kultur noch eine mittelmäßige Entwicklung (*Lenzites sepiaria*). Wahrscheinlich könnte bei längerer Dauer des Versuches sogar eine optimale Entwicklung erzielt werden, sofern nicht andere hemmende Faktoren auftreten.

Es wäre denkbar, daß auch das Alter einer Kultur für den Grad der Verlangsamung mitbestimmend sein könnte.

b) Alle Abstufungen der Verlangsamung, die schließlich zum vollständigen Verlust des Synthesevermögens bzw. zu einem absoluten oder scheinbar absoluten Aneurinbedürfnis führen.

Diese verschiedenen Faktoren können zusammen wirken. Der Fall 2a (verlangsamte Synthese) kann den Fall A (teilweises Synthesevermögen)

¹ Persönliche Mitteilung von A. LWOFF und A. DUSI (Institut Pasteur, März 1939):

Für *Rhodotorula rubra* (Stamm Lister Nr. 4585) ist tatsächlich in Nährlösungen ohne Wachstumsfaktor ein schwaches Synthesevermögen für Pyrimidin vorhanden (s. S. 62). Es ist möglich, einen Stamm von *R. rubra* in einer Lösung mit Ammoniumazetat ohne eine Spur von Pyrimidin beliebig lange zu kultivieren (36 Überimpfungen in 14 Monaten).

Nach einem Jahr ist die optische Dichte der so angepaßten Kulturen 3—4mal höher als bei demselben Stamm ohne diese Vorbehandlung. Es scheint also, daß durch diese einjährige Behandlung ein schwaches Synthesevermögen wieder hergestellt worden ist.

vortäuschen. Diese beiden Faktoren können auch zusammen wirken. In extremen Fällen führen die Fälle A und 2b zum gleichen Resultat und können nicht unterschieden werden.

F. Das Aneurin als physiologischer Begriff.

Beim Vergleich der verschiedenen Testmethoden für den Nachweis des Aneurins müssen wir feststellen, daß die Ergebnisse sehr voneinander abweichen. Mit jedem Test erfassen wir eigentlich etwas anderes.

Die Ratte zeigt nur das Vorhandensein des ganzen Aneurinmoleküls an. Durch den Taubentest dagegen lassen sich neben dem Aneurin auch Pyrimidin und Thiazol nachweisen. Mit dem Thiochromtest reagieren Substanzen positiv, die in Stellung 4 des Pyrimidins eine NH_4 -Gruppe und in Stellung 2 des Thiazols ein Wasserstoffatom enthalten und die auf das Tier überhaupt keine Wirkung mehr haben. (Aneurin mit β - oder γ -Hydroxyäthyl in Stellung 5 des Thiazols.)

Der *Glaucoma piriiformis*-Test zeigt die Anwesenheit von Aneurin an, aber auch Homologe mit einer β - oder γ -Propylgruppe in Stellung 5 des Thiazols. Der *Staphylococcus*-Test, der auch vorgeschlagen wurde, reagiert nicht nur auf Aneurin, Pyrimidin und Thiazol, sondern auch auf Biotin. Mit einem unreinen Extrakt würde man viel zu hohe Werte für Aneurin erhalten.

Andere Teste als Ratte und Taube wurden immer in der Hauptsache in Hinsicht auf die Bedürfnisse des Tieres angewendet: Man wollte damit die Aneurinmenge bestimmen, die auf Tier oder Mensch wirksam ist. Alle Teste, die auch auf andere Substanzen reagieren, müssen als ungenau, sogar als ungenügend betrachtet werden. Vom praktischen Standpunkte aus sollten diese Einschränkungen berücksichtigt werden; dagegen haben sie von demjenigen der allgemeinen Physiologie aus keinen Sinn. Reagiert ein pflanzlicher Organismus auf Analoge und Substitutionsprodukte des Aneurins, die keine Wirkung auf das Tier ausüben, so ist dies teilweise so zu erklären, daß er die Fähigkeit besitzt, diese Substanzen in aktives Aneurin umzusetzen.

Wir bezeichnen deshalb als Aneurin im physiologischen Sinne des Wortes jede Substanz, die durch ein Lebewesen in aktives Aneurin und in Carboxylase (oder in aneurinähnliche Stoffe) umgewandelt werden kann. Der Umfang dieses physiologischen Aneurinbegriffes ist je nach den Organismen und ihren Fähigkeiten variabel. Wie auch der Grad der Spezifität sein mag, ist immer die Bildung von aktivem Aneurin maßgebend.

Vom praktischen Standpunkt aus ist vielleicht diese Kritik nicht so schwerwiegend, da wahrscheinlich die Analoge des Aneurins in natürlichen Produkten bei weitem nicht so verbreitet sind wie das Aneurin s. str. selber.

VII. Die Biossubstanzen.

A. Allgemeines. Arbeitsmethoden. Einheiten.

Das Biosproblem, das noch heute nicht vollständig gelöst ist, bildete den Ausgangspunkt für die Erforschung der Wachstumsfaktoren bei den Mikroorganismen und spielte in der geschichtlichen Entwicklung dieser Frage eine hervorragende Rolle.

PASTEUR hatte 1858 (1) festgestellt, daß die Hefe sich in einer synthetischen Nährlösung, die neben den Aschenbestandteilen der Hefe Ammoniumsalze und Zucker enthält, entwickelt. Dies wurde von LIEBIG (1871) bestritten. Die Frage blieb ungelöst, bis WILDIERS (1904) zeigen konnte, daß die Zahl der eingepfropften Zellen eine sehr wichtige Rolle spielt. PASTEUR hatte seine Nährlösungen stark beimpft, während LIEBIG nur eine sehr schwache Aussaat verwendete. WILDIERS bewies, daß bei starker Impfung aus dem früheren Substrat bestimmte Stoffe übertragen wurden, die imstande waren, eine Entwicklung der Hefe auszulösen. Diese unbekanntesten Substanzen wurden als Bios bezeichnet. Von 1904 bis 1925 wurde diese Frage in zahlreichen Arbeiten behandelt, doch kam man zu sehr widersprechenden Ergebnissen. LINDNER (1919) gelangte z. B. zu einer vollständigen Ablehnung des Biosbegriffes.

Angeregt durch die Fortschritte der Vitaminlehre (besonders im Hinblick auf die Vitamine der B-Gruppe) suchten andere Autoren eine Analogie zwischen Bios und dem antineuritischen Vitamin nachzuweisen. Auf Grund der scheinbar übereinstimmenden Eigenschaften und der ähnlichen Verbreitung stellte R. J. WILLIAMS (1) die Hypothese auf, daß Bios und Vitamin B₁ identisch seien. Man schlug sogar die Hefe als einfachen Test für den Nachweis des antineuritischen Vitamins vor [R. J. WILLIAMS 1919 (2), W. H. EDDY, H. L. HEFT, H. C. STEVENSON und R. JOHNSON 1921, BACHMANN 1919, E. ABDERHALDEN 1922].

Eingehendere Untersuchungen zeigten aber, daß diese Analogie nur eine oberflächliche ist. So beobachteten z. B. DE SOUZA und MAC COLLUM, daß der Weizenkeim nach Laugebehandlung in der Hitze keine antineuritische Wirkung auf die Ratte mehr ausübt, dagegen blieb die Aktivität für Hefe erhalten. Diese Tatsache wurde von verschiedenen Autoren bestätigt.

Es ist also möglich, durch die Eigenschaft der Laugebeständigkeit, Thermostabilität, Adsorption und auch der Löslichkeit den antineuritischen Faktor vom Bios zu trennen. Diese Feststellung bedeutete einen ersten Fortschritt in der Erkenntnis der Biosstoffe.

Weiterhin wurde gezeigt, daß das Bios nicht als metallischer Katalysator mit positiver oligodynamischer Wirkung aufgefaßt werden kann. VON EULER und seine Mitarbeiter wiesen ferner nach, daß Bios nicht mit der Cozymase von HARDER und YOUNG identisch ist. Weitere Untersuchungen aus der Schule von LÖWEN förderten zahlreiche Anhaltspunkte für die Existenz des Bios zutage und bestätigten damit die Ergebnisse von WILDIERS [IDE 1921 (1), R. DEVLOO 1906 (1), IDE 1931 (2)].

Einen weiteren Fortschritt erzielte COPPING durch den Nachweis, daß sich verschiedene Heferassen ungleich verhalten. Hefen, die stark atmen, aber schwach oder gar nicht gären, gedeihen in synthetischen Nährlösungen ohne Zusatz von Bios, während die durch lange Domestikation und Kultur degenerierten Laboratoriumshefen auf Biosstoffe angewiesen sind. Ähnliche Feststellungen waren schon vorher gelegentlich gemacht worden.

Man glaubte mehrmals, eine kristallisierte Substanz mit den Eigenschaften des Bios isoliert zu haben (W. H. EDDY, R. W. KERR und R. R. WILLIAMS 1924). Diese Beobachtungen wurden jedoch nicht bestätigt.

Die eigentliche aktive Periode der Biosforschung setzte ein, als man die komplexe Natur des Bios erkannte (E. J. FULMER, W. W. DUECKER und V. E. NELSON 1923).

LUCAS zeigte 1924, daß durch eine Behandlung mit alkoholischer Barytlösung oder basischem Bleiazetat zwei Fraktionen entstehen: Ein Bios I, das im Niederschlag enthalten ist, und ein Bios II, das im Filtrat bleibt. Einzeln sind die beiden Fraktionen wenig wirksam, beide zusammen aber sind voll aktiv.

Bios II kann durch Behandlung mit Tierkohle weiter zerlegt werden [LASH MILLER, EASTCOTT und SPARLING (1932), LASH MILLER, EASTCOTT und MACONACHIE 1933]. Nach der Terminologie der Amerikaner hätten wir also: ein Bios I (durch Bleiazetat fällbar), ein Bios IIa (nicht an Tierkohle adsorbierbar), ein Bios IIb (an Tierkohle adsorbierbar).

Nach KÖGL und TÖNNIS entsprechen die Bezeichnungen Bios I, II und III (Terminologie von UTRECHT) dem Bios I, IIb und IIa der Schule von Toronto. Heute sind wir über die Chemie dieser Substanzen genau orientiert.

Die Untersuchungsmethoden, die von den einzelnen Autoren im Laufe der letzten 30 Jahre angewendet wurden, sind sehr verschieden. WILDIERS bestimmte die Menge von CO₂, das durch die Gärung gebildet wurde. Nun können CO₂-Menge und Trockengewicht der Hefe zufällig übereinstimmen, aber sie werden durch andere Faktoren bedingt. Die Aktivatoren der alkoholischen Gärung und die des Wachstums sind verschieden und brauchen nicht zusammen und im gleichen Sinne zu wirken.

Bedeutend zuverlässigere Werte gibt die Bestimmung der Entwicklung und der Entwicklungsgeschwindigkeit durch Auszählung der Zellen oder durch Ermittlung des Trockengewichtes. DAGYS (1, 2, 3) und RIPPEL (2) benutzten die Zahl der gebildeten Zellen im hängenden Tropfen als Maßstab für die Entwicklung. Ebenso kann das Volumen des Sediments nach Zentrifugierung bestimmt werden. Die genaueste, aber auch die umständlichste Technik wäre die Bestimmung des Trockengewichtes. Die nephelometrische Methode, die z. B. von KÖGL und TÖNNIS angewendet wurde, ist weniger genau, führt aber viel rascher zum Ziele und liefert sicher brauchbare Vergleichswerte.

Die Entwicklung der Kulturen wird durch eine festgesetzte Einheit ausgedrückt. KÖGL bezeichnet als *Saccharomyces*-Einheit diejenige Menge von Bios, die in 5 Stunden eine Vermehrung der Zellenzahl um 100% bewirkt. Diese Einheit kann nur unter den von KÖGL und TÖNNIS genau angegebenen

Bedingungen angewendet werden: 8—10 mg Hefe (Rasse M von *S. cerevisiae*) werden 45 Minuten in steriler Nährlösung gehalten. Hierauf wird 1 ccm dieser Suspension (3250000 Zellen) in 25 ccm Nährlösung geimpft, in der die auf Bioswirkung zu prüfende Substanz enthalten ist. Die Kontrollkulturen ohne Bios zeigen eine Vermehrung der Zellen um 20—40%; einer *Saccharomyces*-Einheit (SE.) entspricht eine Zunahme um 100%. Es handelt sich also hier um ganz andere Bedingungen, als gewöhnlich für den Nachweis von Wachstumsfaktoren angewendet werden.

Nimmt man an, daß ohne Bios überhaupt keine Entwicklung erfolgt, so muß vermutet werden, daß durch das Impfmateriale eine nicht zu vernachlässigende Menge von Wachstumsfaktoren in die Kontrollkulturen gebracht wird. Mit diesem Einwand soll die Möglichkeit der Messung nach den Angaben von KÖGL nicht bestritten werden. Es ist aber unmöglich, mit dieser Methode eine Kurve mit einem Optimum der Bioswirkung zu erhalten. Dazu ist die Dauer der Beobachtung zu kurz. Der Versuch wird abgebrochen, bevor sich die gesamte vorhandene Menge von Bios auf die Entwicklung der Hefe auswirken kann. KÖGL und TÖNNIS erwähnen selber, daß nach 5 Stunden nur ein Teil des Bios adsorbiert ist.

Nach RIPPEL (2) kann folgender Fall eintreten: Mit zwei verschieden starken Impfungen, einer sehr schwachen (10 Zellen) und einer stärkeren (1000 Zellen) können in den beiden Kulturen bei gleicher Menge der vorhandenen Wirkstoffe während der ersten 5 Stunden des Versuches bedeutende Unterschiede in der Entwicklung auftreten. Würde man aber den Versuch bis zum Abschluß der Entwicklung weiterführen, so müßte diese theoretisch in beiden Kulturen gleich sein.

Eine umfassende Untersuchung erfordert nicht nur die Aufstellung von Konzentrationskurven, sondern auch von Zeitkurven, wie dies übrigens von VAN HASSELT, einem Schüler KÖGLS, auch durchgeführt wurde.

Eine neue Maßeinheit wurde von K. RIPPEL (1, 2) eingeführt. Nach ihm entspricht eine Hefeinheit derjenigen Menge des Wirkstoffes, die nötig ist, damit in der Nährlösung von Boas aus einer Zelle 1000 entstehen.

Man kann sich hier natürlich fragen, ob die Knospungsintensität immer parallel zur Bildung von Trockensubstanz verläuft. Es scheint uns doch, daß die Gewichtsbestimmung, obschon sie sehr zeitraubend ist, doch genauere Werte liefert. NIELSEN (4) wandte diese Methode an. Als Vermehrungsfaktor F bezeichnet er das Verhältnis des Trockengewichtes von Kulturen mit Wachstumsfaktoren zu solchen ohne Wachstumsfaktoren. Der Wert von F ist in hohem Grade von der Kulturdauer abhängig; er ist umgekehrt proportional zur Menge des Impfmateriales.

ALMOSLECHNER (siehe auch TEINDL-CZECH) arbeitete mit Einzellkulturen im hängenden Tropfen, während DAGYS (1) 30—60 Zellen verwendete. Diese Methode ermöglicht die Feststellung der Generationsdauer, die mit derjenigen der Kontrollkulturen verglichen werden kann. Die Generationsdauer muß folglich um so kürzer sein, je höher die Konzentration der Wachstumsfaktoren ist.

Andere Einheiten wurden von REUTER wie auch von ENDERS und HAGEDÖRFER vorgeschlagen. Auf alle Fälle wäre es dringend notwendig, mit einer allgemein anerkannten Methode zu arbeiten. Erst dadurch wären quantitative Vergleiche der Resultate verschiedener Autoren möglich.

B. Bios I (Mesoinositol).

Bios I ist durch Bleiazetat in ammoniakalischer Lösung fällbar. 1928 isolierte Miss EASTCOTT das Bios I von LUCAS aus Teestaub und identifizierte es als Mesoinosit. Diese Substanz wirkt nur in Anwesenheit

von Bios II deutlich. Der Einfluß von Bios I konnte bei allen Hefen, die in bezug auf Wachstumsfaktoren heterotroph sind, beobachtet werden, wenn genügend gereinigte Präparate von Bios II, die keine Spuren von Inosit mehr enthalten, verwendet wurden. Es ist heute allgemein anerkannt, daß Bios I nicht nur für Hefen, sondern auch für andere Mikroorganismen wirksam ist.

Miss EASTCOTT isolierte das Bios I mit einer ziemlich groben Methode: Die Begleitstoffe wurden durch 22stündiges Kochen mit 20%iger Salzsäure verkohlt. Diese Behandlung führt zu einer Verdoppelung der Aktivität. Nach KÖGL und VAN HASSELT (1) könnte im Teestaub nicht nur freier, aktiver Inosit, sondern auch inaktive Ester vorkommen, die durch Verseifung ebenfalls aktiven Inosit liefern.

KÖGL und VAN HASSELT wandten eine etwas feinere Methode an, durch die das gebundene Inosit nicht angegriffen wird. Es gelang ihnen, Bios I in Form von Mesoinositol aus Hefe zu isolieren. Der Gehalt an Bios I ist im Plasmolysesaft der Hefe höher als im Kochsaft.

Tabelle 18. Der Mesoinositolgehalt von Hefesäften bei verschiedenen Extraktionsverfahren.

	Rückstand mg	Inositgehalt mg	Inositgehalt pro Gramm mg
Kochextrakt	2308	69	30
Autolysesaft	3256	325,6	100
Plasmolysesaft	550	110	200

Die Extraktion von Bios I aus dem Plasmolysesaft wurde folgendermaßen durchgeführt: 1 kg Hefe wird mit 100 g Natriumazetat stehen gelassen. Dann wird die Masse in 2 Liter Wasser suspendiert und zentrifugiert. Die Lösung wird im Vakuum eingengt, in 150 ccm Wasser wieder aufgenommen und langsam mit 800 ccm Alkohol versetzt. Nach der Entfernung des Alkohols folgt eine Behandlung mit Bleiazetat und Ammoniak. Die letzten Spuren von Bios II werden durch Behandlung mit Tierkohle entfernt. Der Trockenrückstand des Filtrates wiegt 550 mg. Die Bioswirkung entspricht der Förderung durch 110 mg Inosit. Der erhaltene Sirup wird azeityliert (Kochen mit 40 g Azetyl bromid). Man erhält ein Mesoinosit-hexaphosphat (Schmelzpunkt 210—211°, unkorrigiert) (Abb. 39).

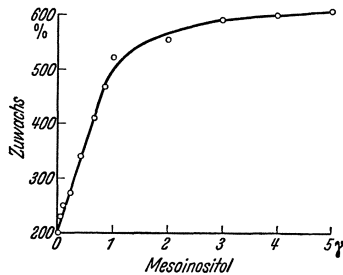


Abb. 39. Einfluß von Mesoinositol (Bios I) auf die Entwicklung der Hefe in Gegenwart von Bios II und „III“. [Nach KÖGL und VAN HASSELT (1).]

Spezifität der Wirkung.

Nach LASH MILLER kann Mesoinositol nicht durch Mannit, Quercit, Quebrachit oder Scyllit ersetzt werden. Ebenso sind nach KÖGL und VAN HASSELT mehrwertige Alkohole, wie Arabit, Adonit, Dulcit, d-Sorbit, d-Mannit, und Cyklohexanole, l-Inosit und Mytilit, unwirksam.

Nach READER (4) ist Mannitol für *Streptothrix corallinus* aktiv und verstärkt die Wirkung des Inositols und des Torulins (Vitamin B₁).

Die Wirkung von Mesoinosit kann also als sehr spezifisch bezeichnet werden. Sie ist schon in Verdünnungen von 1:200000 wahrnehmbar. Die Substanz ist in tierischen und pflanzlichen Geweben verbreitet.

C. Bios II

(Biotin von KÖGL, Bios II b von LASH MILLER.) Pantothensäure.

Bios II ist nicht fällbar durch Bleiazetat in ammoniakalischer Lösung; an Tierkohle adsorbierbar.

Alle bis 1935 ausgeführten Untersuchungen beziehen sich auf Konzentrate von Bios II.

R. J. WILLIAMS, LYMAN, GOODYEAR, TRUSDAIL und HOLIDAY isolierten 1933 aus der Leber eine sehr aktive Substanz, die im Tier- und Pflanzenreiche weit verbreitet ist und deshalb Pantothensäure genannt wurde. Es handelt sich dabei nicht um eine chemisch reine Substanz. Sie wird als aliphatische Oxyssäure mit relativ niedrigem Molekulargewicht betrachtet. R. J. WILLIAMS und MOSER geben eine Dissoziationskonstante, die durch fraktionierte Elektrolyse festgestellt wurde. Kürzlich haben R. J. WILLIAMS und seine Mitarbeiter (1938) Pantothensäure aus der Leber so weit konzentriert, daß ihr Präparat 11000mal aktiver ist als das Standard-Reiskleieextrakt (0,0005 γ pro Kubikzentimeter). Die Substanz war allerdings noch nicht kristallisiert. Die Bruttoformel: $(C_8H_{14}O_5N)_2$ ist seither durch R. J. WILLIAMS und seine Schule (1939) ermittelt worden.

Die Pantothensäure läßt sich auf keinen Fall mit dem Biotin identifizieren. Möglicherweise kann sie Biotin als Verunreinigung enthalten. Es ist aber merkwürdig, daß die Pantothensäure gleich wie das reine Biotin gemeinsam mit dem Inositol und dem Vitamin B₁ wirkt (R. J. WILLIAMS und SAUNDERS).

Den größten Fortschritt in der Erforschung des Bios II verdanken wir KÖGL. Die zuerst versuchte Darstellung aus Hefe ergab keine befriedigenden Ergebnisse. Schon früher war aber die Vermutung ausgesprochen worden, daß dem Lecithin eine Bioswirkung zukomme [IDE (2), DEVLOO (1)]. KÖGL und TÖNNIS stützten sich auf diese älteren Beobachtungen und benützten das Eigelb aus den Eiern von chinesischen Enten als Ausgangsmaterial. Der Gang der Konzentration sei hier kurz dargestellt, er vermag uns einen Begriff zu geben von den Schwierigkeiten, die sich bei der Isolation eines Wachstumsfaktors geltend machen.

Das Ausgangsmaterial bestand aus 250 kg Eigelb. Durch zahlreiche Operationen mußten vorerst die Begleitstoffe eliminiert werden. Dies geschah durch Azetonfällung, Alkoholfällung, neutrale und alkalische Bleisalz-fällung, Kohleadsorption, Phosphowolframsäurefällung, Sublimatfällung, Veresterung, Brompikrolonsäurefällung. Diese Operationen führten zu einer Esterbase, die nach Hochvakuumdestillation eine kristallisierte hochaktive Substanz ergab.

Nach dem 1. Umkristallisieren:

285 γ , Schmelzpunkt 146—147°, Wirksamkeit 25 000 000 000 SE/g.

Nach dem 2. Umkristallisieren:

85 γ , Schmelzpunkt 148°, Wirksamkeit 25 000 000 000 SE/g.

Aus den 250 kg Eigelb erhielt KÖGL 1,1 mg der gereinigten Substanz. Da nach den Berechnungen im Ausgangsmaterial 80 mg aktive Substanz enthalten waren ergibt sich eine Ausbeute von etwa 1,8 %.

Eine *Saccharomyces*-Einheit (SE) entspricht also $\frac{1}{25\,000} \gamma$ (0,00004 γ). Mit Hilfe des Diffusionskoeffizienten wurde ein mittleres Molekulargewicht von 200 berechnet. Eine SE entspricht also ungefähr 120 000 000 000 Molekülen. Diese Menge wirkt beim Test von KÖGL und bedingt einen Zuwachs von 100 % einer geimpften Menge von 240 γ Hefe.

Das Methylester des Biotins hat vermutlich die Formel $C_{11}H_{18}O_3N_2S$. Es enthält also wie das Aneurin Schwefel (KÖGL).

Die *Saccharomyces*-Einheit stellt übrigens nicht die untere Wirkungsgrenze des Biotins dar. Mit Verdünnungen von 1 : 40 000 000 000 ist die Wirkung noch sehr deutlich und bei 1 : 400 000 000 000 immerhin noch wahrnehmbar.

Dieses Biotin wirkt zusammen mit Mesoinosit, doch ersetzen beide zusammen nicht vollständig die Standardlösung des Hefekochsaftes, in der alle für die Hefe notwendigen Faktoren enthalten sind. Die Kurve verläuft auch mit steigenden Dosen der aktiven Faktoren (Mesoinosit + Biotin) flach. Sie wird steiler bei Zusatz des Filtrates aus der Kohleelution. Dieses Filtrat muß also andere aktive Faktoren enthalten, die mit den beiden erwähnten Substanzen zusammenwirken. Die Natur dieser Stoffe ist zum Teil noch unbekannt (Abb. 40).

Als weitere sehr auffällige Tatsache muß die folgende Beobachtung von KÖGL erwähnt werden: Die maximale Wirksamkeit wird mit Kohle-adsorbat (Biotin) + Kohlefiltrat erhalten. Die günstige Wirkung des Kohlefiltrates kann aber auch durch eine Überdosierung mit Inosit erreicht werden (1000 statt 5—10 γ). Diese sehr interessante Erscheinung der Ersetzbarkeit von Wachstumsfaktoren bedarf weiterer Untersuchungen.

Die weite Verbreitung in tierischen und pflanzlichen Geweben macht Bios II zu einem Wachstumsfaktor von allgemeiner Bedeutung. Schon jetzt haben die Untersuchungen über diese Substanz die schönsten Ergebnisse der modernen Erforschung der Wachstumsfaktoren gezeitigt. Wenn erst einmal die Konstitutionsformel des Biotins abgeklärt ist und dieser Stoff in größeren Mengen erhältlich wird, darf man auf diesem Gebiete noch weitere interessante Aufschlüsse erwarten.

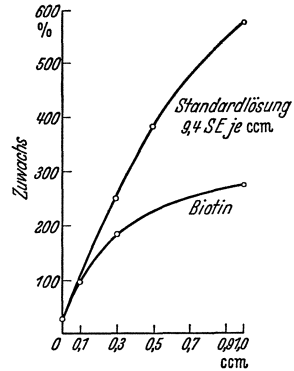


Abb. 40. Einfluß des kristallisierten Biotins auf die Entwicklung der Hefe, verglichen mit der Wirkung des Standardhefekocho-saftes. (Kombiniert nach KÖGL und TÖNNIS.)

Die Untersuchungen von KÖGL beziehen sich auf die gewöhnliche Rasse M von *Saccharomyces cerevisiae*. In gleicher Weise reagiert auch die Rasse von Toronto (LASH MILLER) auf Biotin. Ob alle Rassen, die in bezug auf die Wachstumsfaktoren heterotroph sind, so reagieren, bleibt noch dahingestellt.

D. Die Faktoren des Kohlefiltrates

Bios III von KÖGL, Bios IIa von LASH MILLER: β -Alanin, l-Leucin. Andere Aminosäuren).

Die Untersuchungen über diese Gruppe von Biosstoffen führten bis jetzt nicht zu übereinstimmenden Ergebnissen.

LASH MILLER und seine Schule haben im Kohlefiltrat einen oder mehrere Biosstoffe nachgewiesen [vgl. LASH MILLER (2)]. Als Bios IIa betrachteten Miss STANTIAL und Miss SAUNDERSON eine natürliche Form der Hydroxyaminobuttersäure (HAB), die aus dem Tomatensaft isoliert wurde. Da aber synthetische Hydroxyaminobuttersäure, wie auch eine Reihe anderer Aminosäuren sich als inaktiv erwiesen, muß man wohl die Wirkung irgendwelcher Verunreinigungen annehmen [s. LASH MILLER (2)].

R. J. WILLIAMS und E. ROHRMAN zeigten 1936, daß β -Alanin und Asparaginsäure zusammen auf 4 Heferassen als Wachstumsfaktoren wirkten. Von den 4 Sippen (WILDIERS, Gebrüder MAYER, LASH MILLER, Rasse M von KÖGL) zeigten besonders die beiden letzten eine ausgesprochene Förderung. Das Alanin allein wirkt auf 3 Rassen deutlich aktivierend; die Asparaginsäure dagegen hat fast keine Wirkung. Beide zusammen aber bringen eine maximale Förderung zustande, das Alanin in schwachen Dosen (1 γ), während Asparaginsäure in höheren Konzentrationen beigefügt werden muß. Die Nährlösungen enthielten außerdem 5 mg Mesoinositol pro Liter. Für eine maximale Entwicklung ist auch das Vitamin B₁ und Pantothenensäure notwendig.

Tabelle 19. Wirkung von β -Alanin und Asparaginsäure auf verschiedene Heferassen. (mg Frischgewicht der Hefe bei Zusatz von Inositol. Nach R. J. WILLIAMS und E. ROHRMAN 1936.)

Hefe	Kontrolle	β -Alanin (1 γ /12 ccm Nährlösung)	Asparaginsäure (0,75 mg)	β -Alanin (1 γ) + Asparaginsäure (0,75 mg)
WILDIERS	0,49	0,55	0,80	2,16
Gebrüder MAYER	0,28	1,08	0,28	1,62
LASH MILLER	0,32	0,92	0,58	3,20
Rasse M (KÖGL)	0,42	1,74	0,49	3,0

LASH MILLER (2) beobachtete eine analoge Förderung bei Zugabe von β -Alanin und l-Leucin (Tabelle 20).

Die Wirkung der von Miss STANTIAL hergestellten natürlichen HAB kann auch durch eine Lösung von 3⁰/₁₀₀ β -Alanin hervorgebracht werden. Man kann annehmen, daß in der natürlichen Hydroxyaminobuttersäure solche Substanzen als Verunreinigung vorhanden und wirksam waren, und daß die angenommene Bioswirkung auf sie zurückgeführt werden muß.

Die α -Aminobuttersäure, β - und γ -Oxybuttersäure und die α -Amino- β -oxy-isobuttersäure haben keine Wirkung.

β -Alanin, das in Anwesenheit von Asparaginsäure und Inositol oder von l-Leucin in schwachen Dosen wirksam ist, kann als Bios II a (nach der Terminologie von LASH MILLER) aufgefaßt werden. KÖGL bemerkt, daß β -Alanin bei seinem Test innerhalb 5 Stunden keine Wirkung ausübte, wohl aber nach 18 Stunden in Gegenwart von Inosit und Biotin. Biotin ohne Cofaktor ist aber nach ihm 2000000mal aktiver als β -Alanin zusammen mit Mesoinosit und Asparaginsäure.

Daß Aminosäuren als Wirkstoffe funktionieren können, wurde auch durch die Untersuchungen von NIELSEN und HARTELIUS

(10, 11) bestätigt. Sie kultivierten die Hefe in 50 ccm einer synthetischen Nährlösung, die 5 γ Aneurin und 0,5 ccm mit Hefe ausgeschüttelte Bierwürze enthielt. (Durch biologische Adsorption verliert die Bierwürze durch diese Behandlung die Hefewirkstoffe.) In dieser Nährlösung wurde die Wirkung von 34 Aminosäuren untersucht. Von diesen erwiesen sich allein 6 als wirksam, nämlich β -Alanin, Asparagin, Asparaginsäure, Glutaminsäure, Lysin und Arginin. Für sich haben diese Aminosäuren keine aktivierende Wirkung; sie können sogar toxisch sein. In Übereinstimmung mit den oben erwähnten Arbeiten zeigten NIELSEN und HARTELIUS, daß das β -Alanin am aktivsten ist. Maximale Wirkung 1/10 · 10⁶. Noch nachweisbare Förderung bei einer Verdünnung von 1/200 · 10⁶. Die anderen Aminosäuren sind in folgenden Verdünnungen noch wirksam: Lysin 1 : 40000, Arginin 1 : 20000, Glutaminsäure 1 : 10000. Das Asparagin ersetzt die Asparaginsäure.

Das β -Alanin kann weder durch β -Alaninglycin noch durch β -Oxypropionsäure ersetzt werden. Es gelang NIELSEN und HARTELIUS, aus den inaktiven Dipeptiden Alanylglycin und Glycylasparaginsäure, ein aktives β -Alanin bzw. Asparagin zu gewinnen. Das beweist, daß

Tabelle 20. Wirkung von l-Leucin und β -Alanin auf Hefe.
[Nach LASH MILLER (2).]

Zusatz von		Wachstum ¹	
Leucin mg/ccm	β -Alanin mg/ccm	mit 0,01 mg/ccm Bios II b ²	ohne Bios II b
0	0	32	2,0
0,030	0	43	1,5
0	0,000016	48	2,2
0,0025	0,000016	75	—
0,0050	0,000016	90	—
0,010	0,000016	101	—
0,030	0,000016	138	1,5

¹ Das Wachstum wird hier durch die Zahl der Zellen in 1/250000 ccm angegeben.

² Gereinigtes Konzentrat nach Miss EASTCOTT, in MILLER (2).

die Wirkung hier nicht auf irgendwelche Verunreinigungen, sondern nur auf die beiden Aminosäuren zurückgeführt werden kann.

VAN HASSELT konnte durch Zusatz einzelner Aminosäuren in Nährlösungen, die Inosit und Biotin enthielten, nur eine geringe oder gar keine Förderung feststellen.

E. Das Aneurin als Biosstoff.

Wie schon ausgeführt wurde, ist das Bios der Hefe nicht dem antinevritischen Vitamin gleichzustellen. Immerhin bleibt die Tatsache bestehen, daß Aneurin für gewisse Heferasen als Wachstumsfaktor in Betracht kommt und damit in die Reihe der Biossubstanzen eintritt (R. J. WILLIAMS und SAUNDERS). Schon 1930 hatten WILLIAMS und ROEHM festgestellt, daß ein kristallisiertes Aneurinpräparat von JANSEN auf Hefe wirksam war.

Diese Angaben wurden auch von NIELSEN und HARTELIUS (1) bestätigt. Sie benützten eine synthetische Nährlösung (Kulturen von 50 ccm) mit Zusatz von 5 mg eines Aminosäuregemisches (β -Alanin, Asparagin und Glutaminsäure), 0,5 ccm Würze und 5 γ Aneurin. Die Ergebnisse sind aus nachstehender Tabelle 21 ersichtlich:

Tabelle 21. Wirkung des Aneurins auf Hefe.
[Nach NIELSEN und HARTELIUS (10).]

Zusatz	Hefetrockensubstanz pro 50 ccm mg
Ohne Zusatz	2,4
Aminosäuregemisch	4,3
Aminosäuregemisch + Aneurin	4,4
Aneurin	2,3
Unbehandelte Würze	12,9
Unbehandelte Würze + Aminosäuregemisch	17,6
Unbehandelte Würze + Aminosäuregemisch + Aneurin	20
Unbehandelte Würze + Aneurin	14,2
Ausgeschüttelte Würze	7,2
Ausgeschüttelte Würze + Aminosäuregemisch	13,4
Ausgeschüttelte Würze + Aminosäuregemisch + Aneurin	17,1
Ausgeschüttelte Würze + Aneurin	8

Das Aneurin kommt also hier als zusätzlicher Faktor in Betracht. Auf indirektem Wege gelangte VAN HASSELT in seinen Untersuchungen über die Faktoren des Tierkohlenfiltrates zum Aneurin. Das Filtrat enthält eine Substanz, die teilweise an Frankonit adsorbierbar ist und folgende Eigenschaften aufweist: Sie ist organischer Natur, erträgt das Kochen mit 20% HCl und 5% Ba(OH)₂. Durch Oxydation mit Silberoxyd in ammoniakalischer Lösung wird sie nicht verändert. Aus den

reinsten und konzentriertesten Präparaten dieses Bios III läßt sich die aktive Substanz nicht durch Phosphowolframsäure oder durch die Alkaloidreagenzien ausfällen. Sie kann durch keine der gewöhnlichen Aminosäuren ersetzt werden, wohl aber in vollem Umfange durch reines Aneurin.

Die Annahme, daß Bios III mit Aneurin identisch sein könnte, wird durch die Tatsache gestützt, daß die Rohpräparate von Bios III eine ausgesprochene antinevritische Wirkung haben. Die Werte, die der Tiertest angibt, decken sich ziemlich gut mit denen der Hefe.

Dagegen muß erwähnt werden, daß die chemischen Eigenschaften dieser beiden Substanzen absolut nicht übereinstimmen. Das Aneurin kann in alkalischer Lösung leicht zerstört werden und wird durch Tierkohle adsorbiert. Man muß wohlannehmen, daß das Aneurin in den Rohpräparaten von Bios III maskiert oder in irgendeiner Weise kombiniert vorhanden ist, wobei es ganz andere Eigenschaften hätte als freies Vitamin. Es könnten auch die hitze- und laugebeständigen Komponenten des Aneurins vorhanden sein.

Andererseits ist es wohl möglich, daß das ungereinigte Bios III sowohl aktive Aminosäuren (β -Alanin u. a.) wie auch Aneurin enthält, womit seine antinevritische Wirkung erklärt wäre. Auf alle Fälle ist mit der Annahme, daß Bios III wirklich dem Aneurin nahe steht, eine Synonymie von Bios III und IIa nicht mehr möglich. Über diese Zusammenhänge müssen künftige Untersuchungen Aufschluß geben.

Dagegen steht fest, daß Aneurin auch für Hefen, die dieses Vitamin nicht mehr in genügender Menge zu synthetisieren vermögen, als Wachstumsfaktor in Betracht kommt (s. Abb. 41 für die Wirkung der drei Biossubstanzen).

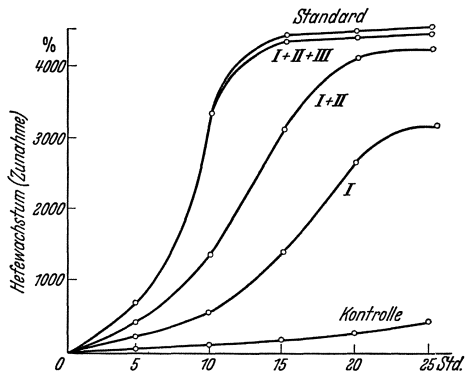


Abb. 41. Wirkung der drei Biosstoffe auf Hefe als Funktion der Zeit. (Nach VAN HASSELT.)

F. Die Bestandteile des Aneurins.

Die Frage, ob das Aneurinmolekül in seiner Bioswirkung durch seine Bestandteile ersetzt werden kann, wurde bis jetzt noch nicht studiert. SCHULTZ, ATKIN und FREY (2) untersuchten einen Stamm von *Saccharomyces cerevisiae*, bei dem die Wirkung von Bios I, IIa und IIb durch Zugabe von Aneurin stark erhöht wurde. Auch Pyrimidin und Thiazol zeigten eine deutliche Wirkung; beide zusammen bewirkten die gleiche Förderung wie Aneurin. Bei einem anderen Stamm wurde die

Wirkung der erwähnten Biossubstanzen durch Zugabe von Aneurin herabgesetzt. Bei diesem Stamm wirkten auch Pyrimidin und Thiazol hemmend. Diese Beobachtungen bedürfen noch einer Bestätigung.

G. Bios V.

Miss FARELL beobachtete, daß sich *Saccharomyces cerevisiae* in einer Nährlösung, die neben Bios noch Tomatensaft enthält, besser entwickelt als mit Bios I, IIa und IIb zusammen. Die aktive Substanz scheint durch die Behandlung, die zur Darstellung von Bios I und II führt, zerstört zu werden. Miss FARELL bezeichnete sie als Bios V. Dieses wird durch Tannin ausgefällt und kann durch weitere Behandlung des Niederschlages angereichert werden (ELDER). Bios V kann in seiner Wirkung nicht durch d-Ribose, Xylose, l-Arabinose, d-Arabinose oder Rhamnose ersetzt werden. Auch 13-Aminosäuren erwiesen sich als unwirksam. Dieses Bios V ist für *Saccharomyces Hanseniaspora valbyensis* notwendig, nicht aber für *Saccharomyces cerevisiae galactosus*. Endlich scheinen in den letzten Filtraten noch andere Faktoren vorhanden zu sein, was von allen Biosforschern angenommen wurde.

H. Sterol.

In diese Gruppe scheint ein Sterol zu gehören. R. DEVLOO (2) fand in den Filtraten aus den Phosphowolframsäurefällungen, die nach der Herstellung von Biotinkonzentraten im Rückstande bleiben, einen Faktor, der zusammen mit den Fällungen auf die Hefe (Rasse von WILDIERS) fördernd wirkt. Er stellte ein Biosterol fest, das azetyliert werden kann. Das Azetylat wird erst nach Verseifung aktiv. Es ist dann in Chloroform und Äther löslich, aber unlöslich in Wasser und Alkohol.

Nach den Versuchen von DEVLOO scheint dieses Biosterol ebenso unentbehrlich zu sein wie das Biotin. Ein ungereinigtes Bios enthält 10 Einheiten von Biosterol auf eine Einheit von Biotin. Die Untersuchung der Spezifität der Wirkung führte zu interessanten Ergebnissen: das Cholesterol ist z. B. unwirksam. Die als rein bezeichneten Cholesterole aus Galle enthalten 1⁰/₁₀₀ wirksames Biosterol. Ergosterol ist gleich aktiv wie Biosterol (eine Einheit entspricht 0,01 mg); ebenso wirksam sind Sitosterol und Vitamin D₂ (bestrahltes Ergosterol, Calciferol).

Die Beobachtungen über die Bedeutung von Sterolen als Wachstumsfaktoren sind noch recht spärlich. Interessant ist die Feststellung, daß Sitosterol als Wachstumsfaktor auf *Trichomonas columbae* wirkt, während das Vitamin D₂ inaktiv ist (CAILLEAU) (s. S. 137).

Wir finden also bei den Hefe wirkenden Wachstumsfaktoren außerordentlich komplizierte Verhältnisse, die um so unübersichtlicher werden, je weiter die Untersuchungen fortschreiten.

Zusammenfassend können wir folgende Faktoren unterscheiden:

Bios I. Mesoinositol (Bedeutung von DEVLOO (2) an WILDIERS' Heferasse bestritten).

Bios IIa. Gesamtwirkung eines Gemisches von Aminosäuren, von denen hauptsächlich dem β -Alanin eine besondere Bedeutung zukommt (β -Alanin + l-Leucin, Alanin + Asparaginsäure und andere Aminosäuren nach NIELSEN, s. S. 146).

Bios IIb. Biotin von KÖGL. Ähnlich scheint in gewisser Hinsicht die Pantothensäure von R. J. WILLIAMS und Mitarbeitern zu wirken, doch darf diese Substanz kaum dem Biotin gleichgestellt werden.

Bios III. Nach KÖGL und VAN HASSELT im Tierkohlefiltrat vorhanden. Nicht isoliert; im Test von KÖGL durch Aneurin ersetzbar.

Aneurin. Kommt nach R. J. WILLIAMS und NIELSEN als Hilfsfaktor in Betracht.

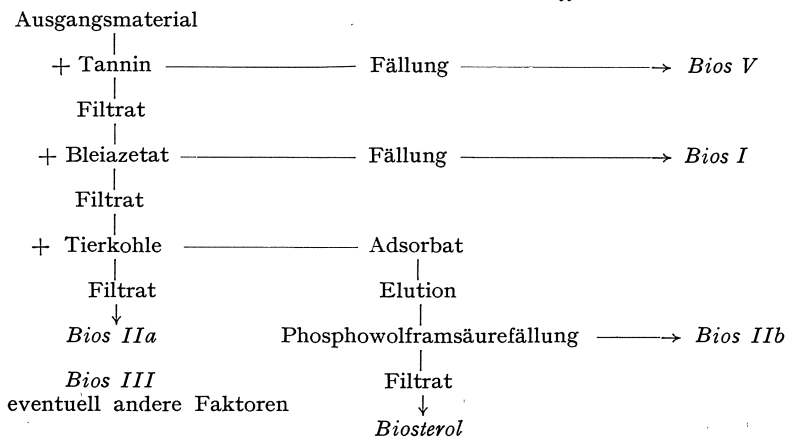
Bios V. Nicht isoliert. Konzentriert durch ELDER.

Biosterol (DEVLOO). Ersetzbar durch Ergosterol und Calciferol (Vitamin D₂).

Wichtig ist, daß eine maximale Aktivität nur durch das Zusammenwirken mehrerer (mindestens 2—3) Faktoren erreicht werden kann. Aber auch diese Wirkung bleibt immer unterhalb derjenigen des Ausgangsmaterials oder der ungereinigten Substanz. Man darf deshalb wohl auf die Wirkung anderer Faktoren schließen, wobei es sich um unbekannte Wachstumsfaktoren, um Pseudowachstumsfaktoren, oder auch um Nährstoffe mit spezifischer Wirkung handeln kann.

Ordnen wir die Biossubstanzen nach ihrer Aktivität, so ist in erster Linie Bios II b (Biotin) zu erwähnen. Diese Substanz wirkt am stärksten und in den höchsten Verdünnungen. Ihre Aktivität wird durch Substanzen wie das Inositol, die als Nährstoffe mit spezifischer Wirkung in Betracht kommen, noch erhöht. Auch das β -Alanin wirkt in den Konzentrationen eines Wachstumsfaktors, während Leucin und Asparaginsäure mehr einem Nährstoff mit spezifischer Wirkung entsprechen.

Schema einer Extraktion der Biosstoffe.



Das vorhergehende Schema zeigt die wichtigsten Stufen einer Extraktion, wobei angenommen wird, daß alle Wirkstoffe aus demselben Ausgangsmaterial gewonnen werden können.

Die Versuche mit diesen Substanzen werden besonders durch den Umstand erschwert und kompliziert, daß die Bedürfnisse der einzelnen Heferassen in bezug auf die Wachstumsfaktoren sehr verschieden und spezifisch sind (ELDER, s. auch LESH und Mitarbeiter).

<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	verlangt Mesoinositol und Bios II, reagiert stark auf Bios IIa (β -Alanin + Leucin).
<i>Saccharomyces mandshuricus</i>	} Mesoinositol wirkt nicht.
<i>Zygosaccharomyces mandshuricus</i>	
<i>Saccharomyces Hanseniaspora valbyensis</i> .	Bios V notwendig.
<i>Saccharomyces cerevisiae galactosus</i> Bäckerhefe	} Bios V wirkt nicht.

Diese Unterschiede mögen sicher zum Teil die Divergenzen in den Angaben der einzelnen Autoren bedingen. Dazu kommt noch die Verschiedenheit des Testes, besonders was die Dauer des Versuches anbelangt. Endlich muß bei solchen Versuchen der Reinheit der übrigen Bestandteile einer Nährlösung alle Aufmerksamkeit geschenkt werden. So enthält z. B. der Rohrzucker, den LASH MILLER bis 1933 verwendete, Biotin [vgl. DEVLOO (2), WILLAMAN und OLSEN, FUNK und FREEMANN].

I. Wirkungsweise und Funktion der Biossubstanzen.

Zwischen den Biosstoffen und den Hefezellen besteht eine deutliche Affinität. VAN HASSELT bemerkt, daß nicht nur das Biotin (Bios II), sondern auch Bios I und III quantitativ adsorbiert werden [s. auch NIELSEN (8)]. Diese Affinität wurde von NIELSEN und HARTELIUS zur Trennung der verschiedenen Wachstumsfaktoren aus einem Gemisch benutzt (s. S. 19).

Über die Wirkungsweise des Bios weiß man sozusagen nichts [NIELSEN (5, 7), HARTELIUS (3)]. Es wurde versucht, das Bios (ungereinigt) in Beziehung zu den enzymatischen Systemen zu bringen (H. J. BREMER und R. H. CLARK 1936). Bios I scheint aktivierend auf die Enzymtätigkeit zu wirken. Bios IIa und IIb wurden nur in unreinen Konzentraten verwendet, so daß noch keine sicheren Schlüsse gezogen werden können. Immerhin zeigen diese Untersuchungen, in welcher Richtung die Forschung weiter gehen muß, denn nach ihrer Wirkung und ihrem Eingreifen in den Stoffwechsel sind die Biosstoffe sicher vitaminischer Natur. Ihre weite Verbreitung, die besonders für Bios I und II festgestellt wurde, läßt auch auf eine allgemeine Bedeutung schließen. Das reichliche Vorkommen in den Samen deutet auf eine Beziehung zur Keimung, die durch Versuche mit Embryonen ohne Kotyledonen auch bestätigt wurde (KÖGL und HAAGEN-SMIT).

Besonders interessant ist auch das Vorkommen in den Eifollikeln des Huhnes. Der Gehalt an Biotin nimmt im Laufe der Entwicklung

sehr stark zu. Bei einem Gewicht des Follikels von 0,7 g beträgt der Gehalt an Biotin 439 SE pro Gramm Frischgewicht des Gewebes, während einem Gewicht von 18,1 g ein Gehalt von 1562 SE pro Gramm entspricht [KÖGL und VAN HASSELT (2)].

DAGYS (1, 2) untersuchte den Biosgehalt von pflanzlichen Geweben. Bios findet sich in den Blättern und in den Knospen von *Quercus Robur* und *Salix fragilis* wie auch in den Maiskeimlingen. DAGYS machte die interessante Feststellung, daß die treibenden Knospen mehr Bios enthalten als die ruhenden. In den Blättern nimmt der Gehalt mit dem Alter ab. Das Kambium belaubter Bäume enthält mehr Bios als ein Kambium im Ruhezustand. Es scheint eine Beziehung zu bestehen zwischen der Aktivität der Gewebe und ihrem Gehalt an Substanzen, die auf Hefe wirksam sind. Das ist natürlich noch kein Beweis, daß die Zellteilung durch Bios beeinflußt werden könnte. Diese Hypothese wird auch von DAGYS abgelehnt.

Von der Tatsache ausgehend, daß Bios, besonders Biotin, die Knospung der Hefezellen beschleunigt, wollte man früher diese Substanzen als Faktoren der Zellteilung betrachten. Heute ist es schwierig, diese Auffassung aufrecht zu erhalten. Die Förderung der Zellteilung durch Biotin ist eine indirekte und beruht wohl auf einer Einwirkung dieser Substanzen auf die Assimilierbarkeit der Nährstoffe. Bios gehört also nach unserer Auffassung in die Gruppe der Wirkstoffe vitaminischer Natur und nicht zu den Hormonen (Phytohormone). Die spezifisch auf die Zellteilung wirkenden Substanzen sind ganz anderer Art (Traumatine von BONNER und ENGLISH).

K. Die Gärungsfaktoren. Der Faktor Z.

WILDIERS hatte seinerzeit die Bioswirkung auf die Hefe durch Bestimmung der Gärungsintensität festgestellt. Wird durch Zugabe von Bios die Vermehrung der Hefe gefördert, so äußert sich dies in einer stärkeren Gärung, ohne daß es sich jedoch um eine spezifische Beeinflussung dieses Vorganges handeln würde. Die Gärung selbst kann durch den Faktor Z von EULER und PHILIPSON (1, 2), der von der Cozymase verschieden ist, gefördert werden. Man suchte Beziehungen zwischen dem Faktor Z und Bios, sowie mit dem Vitamin B₁ festzustellen (TORE PHILIPSON). Der Gärungsfaktor Z ist nicht mit Bios II b (Biotin) identisch, wie man früher annahm. KÖGL zeigte, daß Biotin keinen Einfluß auf die alkoholische Gärung ausübt. Er konnte den Faktor Z so weit konzentrieren, daß er in einer Verdünnung von 1:500000 noch wirksam war und eine Förderung der Gärung um 50% auslöste.

HARTELIUS und NIELSEN trennten mit Anwendung ihrer Adsorptionsmethode den Gärungsfaktor vom Bios. Die Beziehungen zwischen Wachstum und Gärung sind übrigens noch nicht restlos abgeklärt. Da der Gärungsfaktor in einen enzymatischen Prozeß eingreift, entspricht er in seiner Wirkung einem Wachstumsfaktor nach unserer

Definition (siehe S. 143). Die Wirkung des Aneurins auf die Gärung wurde neuerdings von SCHULTZ, ATKIN und FREY (1) untersucht. Sie machten dabei die Feststellung, daß dieses Vitamin die CO_2 -Produktion zu fördern scheint. Mit Aneurin wurde in 3 Stunden 325 ccm CO_2 gebildet gegenüber 185 ccm in den Kontrollen ohne Aneurin.

Diese Autoren beobachteten ferner, daß Aneurin, das einer Hitzebehandlung in alkalischer Lösung unterworfen wurde und deshalb im Tiertest inaktiv war, auf die Gärung weiterhin fördernd wirkte. Es handelt sich um dieselbe Erscheinung, die wir für das Pilzwachstum beobachteten (s. S. 83). Man muß also eine Wirkung der Zerfallsprodukte des Aneurins annehmen. Tatsächlich wirkt das für die Aneurinsynthese verwendbare 2-Methyl-5-äthoxy-methyl-6-amino-pyrimidin für die Gärung ebenso stark fördernd wie das Aneurin selbst, während Thiazol unwirksam ist. Über die Beziehungen zwischen Wachstum und Gärung geben diese Untersuchungen keinen näheren Aufschluß, doch scheint es wenig wahrscheinlich, daß Aneurin allein oder Pyrimidin hier wie Bios auf das Wachstum wirken. Diese Ergebnisse bedürfen noch der Bestätigung.

L. Biosbedürftige Organismen.

Neben den Hefen sind auch andere Mikroorganismen bekannt, die nicht imstande sind, eine oder mehrere Biossubstanzen zu synthetisieren.

1. Bakterien.

a) *Staphylococcus aureus*.

Nach KNIGHT (3, 4) verlangt *Staphylococcus aureus* Aneurin oder seine Bestandteile neben Nicotinsäure bzw. ihrem Amid. KÖGL und VAN WAGTENDONK und VAN WAGTENDONK erzielten mit 0,5 γ Aneurin und 0,5 γ Nicotinsäure eine Wachstumsbeschleunigung von 200%, die durch Zusatz von 0,005 γ Biotin auf 700% erhöht werden konnte.

b) Milchsäurebazillen.

Nach EAGLES, WOOD und BOWEN reagiert ein Milchsäurebakterium, *Betacoccus cremoris*, auf Bios I, IIa und IIb, wobei aber zu bemerken ist, daß diese nach der Methode von LASH MILLER hergestellten Substanzen nicht als rein gelten dürfen. Die Wirkung der Biosstoffe (unrein) wurde durch EAGLES und Mitarbeitern kürzlich bestätigt (1938).

2. Ascomyceten.

a) *Nematospora gossypii*.

Nematospora gossypii, *N. coryli* und *Spermophthora gossypii* gedeihen nach FARRIES und BELL (1930) in der synthetischen Nährlösung von BROWN nicht. *Nematospora gossypii* wurde weiterhin von BUSTON und seinen Mitarbeitern untersucht.

Zwei unbekannte Substanzen erwiesen sich als notwendig, von denen die eine Mesoinositol ist [BUSTON und PRAMANIK (1)]. Es scheint sich dabei um biosähnliche Stoffe [BUSTON und KASINATHAN (2)] zu handeln. BUSTON und PRAMANIK (2) gelang es, den zweiten Faktor aus Linsen zu konzentrieren. KÖGL und FRIES wiesen dann nach, daß es sich dabei um Biotin handelt.

Das Aneurin hat in diesem Falle nur eine sehr schwache Wirkung. Die begrenzenden Faktoren sind hier nach FRIES Mesoinositol und Biotin (vgl. Abb. 42). Beide zusammen bewirken eine gute Entwicklung (+ 1840%), die durch Zusatz von Aneurin noch weiter gefördert

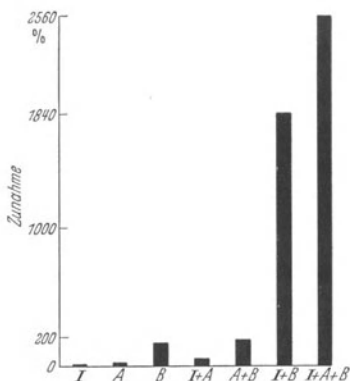


Abb. 42. Einfluß von Mesoinositol (I), Aneurin (A) und Biotin (B) auf *Nematospira gossypii*. (Nach KÖGL und FRIES.)

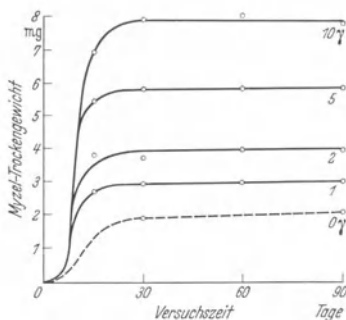


Abb. 43. Wachstum von *Nematospira gossypii* in synthetischer Nährlösung mit 0—10γ Mesoinosit. (Nach FRIES.)

werden kann (+ 2560%). Aneurin und Biotin oder Aneurin und Mesoinositol wirken nur schwach.

Nach FRIES wirkt hier Biotin anders als Mesoinositol. Eine eigentliche quantitative Wirkung, wie sie für das Aneurin nachgewiesen ist, konnte nicht festgestellt werden. FRIES erklärt sich dies mit der Annahme, daß in gewissen Fällen eine minimale Menge dieses Stoffes ausreicht, um ein unbegrenztes Wachstum zu ermöglichen (s. S. 142, B).

Mit einem Überschuß an Biotin und Mesoinositol sind dagegen die Resultate sehr regelmäßig, und es lassen sich exakte Beziehungen zwischen der Dosis von Bios I und dem Myzelgewicht erkennen. Die Kurven verlaufen erwartungsgemäß und zeigen ein deutliches Optimum, wie dies für *Phycomyces* mit Aneurin als begrenzendem Faktor festgestellt wurde (Abb. 43). β -Alanin und l-Leucin haben nach KÖGL und FRIES auf *Nematospira* keine Wirkung.

Für diesen Pilz wäre es interessant, den Einfluß verschiedener Stickstoffkonzentrationen auf die quantitative Wirkung der Wachstumsfaktoren zu untersuchen.

Auch hier arbeitete FRIES nur mit suboptimalen Konzentrationen der Wachstumsfaktoren.

b) *Melanconium betulinum*.
(Nebenfruchtform von *Melanconis*.)

Aneurin, Mesoinositol oder Biotin allein wirken nur sehr schwach. In Gegenwart von Aneurin wird dagegen das Wachstum durch Biotin sehr stark gefördert, während Aneurin und Mesoinositol zusammen weniger wirksam sind (FRIES). Eine maximale Entwicklung, wie sie auf natürlichen Substraten zu beobachten ist, kann nur mit den 3 Biossubstanzen zusammen erreicht werden.

Tabelle 22. Wirkung von Aneurin, Biotin und Mesoinositol auf *Melanconium*. (Nach FRIES.)

	Trockengewicht in mg
Kontrolle	0,2 ± 0,0
1 γ Aneurin + 0,1 γ Biotin	6,3 ± 0,3
1 γ Aneurin + 2 mg Mesoinositol	3,3 ± 0,4
0,1 γ Biotin + 2 mg Mesoinositol	0,4 ± 0,0
1 γ Aneurin + 0,1 γ Biotin + 2 mg Mesoinositol	22,2 ± 0,5
10 mg Hefeextrakt	22,9 ± 0,7

Biotin (als Biotinmethylester) wirkt nach Miss L. HAWKER (2) auch auf *Melanospora destruens*, deren Bedürfnisse an Wachstumsfaktoren schon früher demonstriert worden sind [ASTHANA und HAWKER, HAWKER (1)]. Die Perithezien werden nur mit Aneurin und Biotin gebildet.

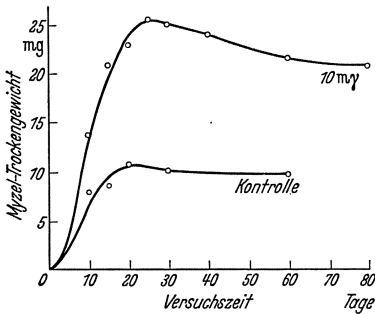


Abb. 44. Wachstum von *Valsa pini* in synthetischer Nährlösung (Maltose — Asparagin) mit Biotin im Überschuß, mit und ohne Aneurin. (Nach FRIES.)

c) *Valsa pini*, *Lophodermium pinastri*, *Hypoxylon pruinaum*.

Nach FRIES wirken bei *Valsa pini* Aneurin und Biotin als begrenzende Faktoren (Abb. 44). Er beobachtete auch eine deutliche Förderung durch Maltose, wie dies für *Phycomyces* nachgewiesen wurde. Wie für *Nematospora gossypii* ist auch hier das Mesoinositol nicht unumgänglich

nötig, doch verstärkt es die Wirkung von Aneurin und Biotin bedeutend. Dasselbe gilt für *Lophodermium pinastri* nach KÖGL und FRIES und für *Hypoxylon pruinaum* nach FRIES.

Einzelnen wirken die Biossubstanzen nicht oder nur schwächer. Bei *Valsa pini* und bei *Hypoxylon pruinaum* ergibt sich immerhin mit Biotin allein eine schwache Stimulation (Tabelle 23).

Tabelle 23. Wirkung von Aneurin, Biotin und Mesoinositol auf *Valsa pini* und *Hypoxyylon pruinaum*. (Nach FRIES.)

	<i>Valsa pini</i>	<i>Hypoxyylon pruinaum</i>
	mg	mg
Kontrolle	0,3 ± 0,0	0,2 ± 0,0
1 γ Aneurin + 0,1 γ Biotin	13,3 ± 0,3	19,7 ± 0,9
1 γ Aneurin + 0,1 γ Biotin + 2 mg Meso- inositol	18,2 ± 0,4	16,9 ± 0,6
10 mg Hefeextrakt	14,8 ± 0,3	16,4 ± 0,4

3. Imperfekten.

Wie bei den Hefen, die von R. J. WILLIAMS und Mitarbeitern untersucht worden sind, wirkt bei *Trichophyton interdigitale* folgende Konstellation von Wachstumsfaktoren: Pantothensäure, Mesoinositol, Aneurin und auch Lactoflavin. Diese Faktoren üben auch einzeln einen günstigen Einfluß aus. Die beste Entwicklung wird aber nur durch die 4 Substanzen zusammen ausgelöst (MOSHER, SAUNDERS, KINGERY und WILLIAMS).

Endlich wirkt Biotin auch bei Pilzen, die sich scheinbar ohne Wachstumsfaktoren zu entwickeln vermögen (FRIES). So wird *Sclerotinia cinerea* durch Aneurin und noch etwas mehr durch Aneurin + Biotin gefördert. Dasselbe gilt für *Nectria coccinea* (s. S. 60)

M. Die Variationen des Synthesevermögens für Biosstoffe.

Diese Ausführungen zeigten, daß bei den verschiedenen Organismen Abstufungen in ihren Bedürfnissen an Biosstoffen bestehen. Wie für das Aneurin, so dürfen wir auch für die anderen Substanzen annehmen, daß gewisse Organismen nicht mehr imstande sind, die Synthese auszuführen und deshalb nur gedeihen, wenn diese Stoffe der Nährlösung beigefügt werden. Das Prinzip der abgestuften Heterotrophie zeigt sich auch für die Biossubstanzen und kann an Hand der bis jetzt bekannten Organismen wie folgt demonstriert werden:

- Aneurin allein notwendig *Phycomyces* usw.
- Aneurin und Biotin notwendig *Valsa pini*, *Lophodermium pinastri*, *Hypoxyylon pruinaum*.
- Biotin und Mesoinositol notwendig . . . *Nematospora gossypii*.
- Aneurin, Biotin und Mesoinositol notwendig *Melanconium betulinum*.

In den Fällen, wo ein oder zwei Faktoren als notwendig bezeichnet worden sind, können auch die beiden anderen (bzw. der dritte) noch eine gewisse Förderung ausüben.

Biosstoffe in verschiedenen Organismen und in ihren Kulturlösungen.

Der Thallus gewisser Mikroorganismen ist reich an Bios. 1935 untersuchten wir Myzelien von *Phycomyces*, die in Nährlösungen mit verschiedenen Aneurinkonzentrationen gewachsen waren [SCHOPFER (10)].

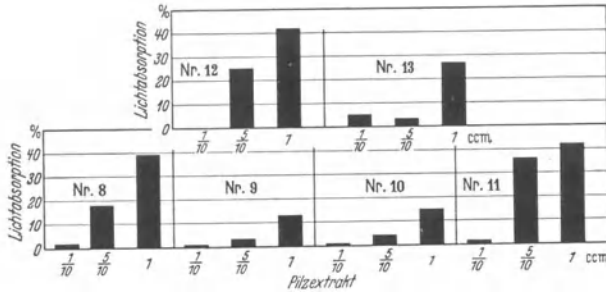


Abb. 45. Einfluß verschiedener Pilzextrakte auf das Wachstum von *Saccharomyces cerevisiae*: 8 *Sporodinia grandis*, 9 *Absidia glauca*, 10 *Absidia orchidis*, 11 *Mucor Mucedo*, 12 *Mucor hiemalis*, 13 *Rhizopus suinus*. [Nach SCHOPFER (10).]

Die Extrakte dieser Myzelien wie auch von auxo-autotrophen Arten aktivieren die Entwicklung von Hefe in synthetischen Nährlösungen stark. So wirken z. B. Myzelextrakte von *Sporodinia grandis*, *Absidia glauca*, *Absidia orchidis*, *Mucor Mucedo*, *Mucor hiemalis* und *Rhizopus suinus* (Abb. 45).

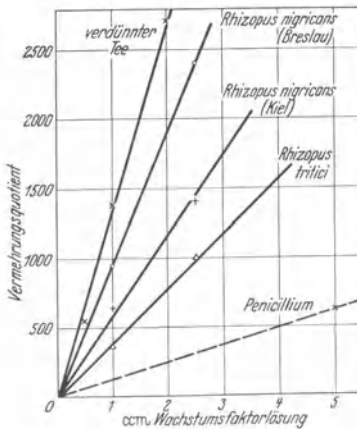


Abb. 46. Einfluß verschiedener gebrauchter Nährlösungen auf die Entwicklung der Hefe in 24 Stunden. [Nach v. EULER und PHILIPSON (2).]

für das Aneurin. Ist Biotin unwirksam auf den Pilz, so kann daraus nicht a priori geschlossen werden, daß überhaupt keine Beziehungen bestehen, sondern es ist anzunehmen, daß dieser Wachstumsfaktor vom betreffenden Organismus selbst synthetisiert wird und in seinem Thallus enthalten ist.

Für *Phycomyces* kann weiter festgestellt werden, daß Myzelien, die mit suboptimalen Dosen von Aneurin gewachsen sind, für das Hefewachstum weniger aktivierend wirken als solche, die mit optimaler oder maximaler Aneurindosis kultiviert wurden (Tabelle 24).

Die Beziehungen zwischen Biotin ($C_{11}H_{18}O_3N_2S$) und Aneurin ($C_{12}H_{18}ON_4S$) können heute wohl diskutiert, aber nicht festgelegt werden [SCHOPFER (10), GREWE]. Obschon sich die beiden Substanzen in verschiedenen Eigenschaften (Adsorbierbarkeit, Thermostabilität) unterscheiden, scheinen Zusammenhänge im Stoffwechsel dieser beiden Wachstumsfaktoren nicht ausgeschlossen.

Gewisse Autoren pflegen die Bezeichnung Bios (Aneurin inbegriffen) für die auf Mikroorganismen wirkenden, wasserlöslichen Wachstumsfaktoren anzuwenden, die der Gruppe B von NIELSEN entsprechen. Dafür fehlen jedoch vorläufig die Grundlagen, da der Mechanismus der Wirkung für Bios im Gegensatz zum Aneurin noch wenig bekannt ist. Nach unserer Auffassung gehören die typischen Biossubstanzen, wie auch das Aneurin zur Gruppe der Wirkstoffe mit vitaminischer Wirkung.

Tabelle 24. Wirkung des *Phycomyces*-Extraktes auf die Hefeentwicklung. [Nach SCHOPFER (10).]

Aneurin in 500 ccm <i>Phycomyces</i> -Nährlösung γ	Hefeentwicklung mit Extrakten aus <i>Phycomyces</i> (% Lichtabsorption).
0,2	1,6
0,5	3,5
1	16
10	38

VIII. Lactoflavin und Vitamin B₆ (Adermin).

Der hohe Gehalt gewisser Bakterien an Lactoflavin deutet darauf hin, daß die Synthese dieses Vitamins nicht an die allgemeine Autotrophie gebunden ist, und daß es auch bei den Mikroorganismen eine Rolle spielen muß (vgl. O. WARBURG und CHRISTIAN, wie auch KUHN, WAGNER-JAUREGG und KATSCHMIDT). Besonders reich an Lactoflavin sind Milchsäurebakterien (*B. Delbrückii*) und Buttersäurebakterien (*Clostridium butyricum*). Ein Pilz, *Eremothecium Ashbyii*, bildet große Mengen eines Flavins, das von GUILLERMOND, FONTAINE und RAFFY, RAFFY (4), MIRIMANOFF und RAFFY mit chemischen, histologischen und spektroskopischen Methoden nachgewiesen wurde. Diese Substanz hat eine ähnliche vitaminische Wirkung auf das Tier wie Lactoflavin [RAFFY (2)].

A. Mikroorganismen, die auf Lactoflavin angewiesen sind (Milchsäurebazillen).

Gewisse Milchsäurebakterien sind auf Wachstumsfaktoren angewiesen. SNELL, TATUM und PETERSON fanden, daß für *Lactobacillus Delbrückii* zwei Faktoren notwendig sind, die beide in Leberextrakten vorkommen. Unter ihren Versuchsbedingungen scheint aber die durch diese Extrakte bewirkte Stimulation nicht auf Lactoflavin zurückzuführen zu sein.

Die Bedeutung des Lactoflavins wurde von ORLA-JENSEN, OTTE und AGNETE SNOG-KJÆR (1, 2) auf folgende Weise festgestellt: Gewisse Milchsäurebakterien entwickeln sich in Milch, welche mit Tierkohle behandelt wurde, nicht. Durch Methanol und Pyridin läßt sich die aktive Substanz eluieren.

Das Eluat, das neben Lactoflavin noch einen anderen hitze- und laugebeständigen Wachstumsfaktor enthält, wirkt auch auf Hefe. Deshalb nimmt ORLA-JENSEN an, daß hier Bios (von ihm als Pantoensäure bezeichnet) wirkt. Die stärkste Förderung ergaben Lactoflavin und „Bios“ zusammen. Für die Stäbchenformen beträgt die notwendige Dosis 0,5 mg Lactoflavin im Liter (0,5 γ /ccm), für die Streptokokken etwas weniger.

Folgende Bakterien benötigen die Wachstumsfaktoren der Milch: *Streptobacterium plantarum*, *Bacterium bifidum*, *Propionibacterium technicum*, *Streptococcus mastilidis*, *faecium*, *glycerinaceus*, *liquefaciens*, *Thermobacterium lactis* und *helveticum*.

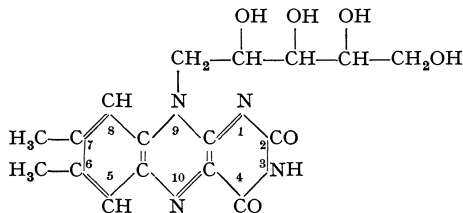
Dagegen entwickeln sich *Bacterium fluorescens liquefaciens* und *Bacterium pyocyaneum* auch auf Milch, die mit Tierkohle behandelt wurde. Sterilisierte Kulturen dieser Bakterien, den Nährlösungen der Arten, die Wachstumsfaktoren benötigen, beigefügt, lösen eine gute Entwicklung aus.

Tabelle 25. Wirkung von Bakterienextrakten auf Milchsäurebakterien. [Nach ORLA-JENSEN, OTTE und AGNETE SNOG-KJÆR (2).]

	Gebildete Milchsäure ‰			
	Titration nach			
	20 Std.	140 Std.	68 Std.	140 Std.
Unbehandelte Milch	2,3 ¹	15,1 ¹	5,0 ²	11,9 ²
Milch nach Behandlung mit Kohle:				
Ohne Zusatz	0,2	0,7	0,3	0,5
Mit Bios	0,9	6,1	1,8	3,6
Mit Bios + 5% Kultur v. <i>Bact. fluor. liqu.</i>	5,4	15,3	9,5	16,2
Mit Bios + 5% Kultur v. <i>Bact. pyocyan.</i>	8,1	15,8	10,1	17,1
Mit Bios + 20% Kultur v. <i>Bact. pyocyan.</i>	11,3	15,5	11,5	18,7

¹ *Thermobacterium lactis* 10. ² *Streptobacterium casei* 11.

B. Spezifität der Wirkung.



Das Lactoflavin wirkt nach ELVEHJEM spezifisch (siehe auch SNELL und STRONG). Die Flavine, die für die Ratte aktiv sind, wirken auch auf Milchsäurebakterien, besonders *Lactobacillus casei*. Es handelt sich um 6-7-Dimethyl-9-(1, d-ribityl)-isoalloxazin, 6-Methyl-7-äthyl-9-(1, d-ribityl)-isoalloxazin, 6-Methyl-7-äthyl-9-(1, d-ribityl)-isoalloxazin, 6-Methyl-9-(1, d-ribityl)-isoalloxazin

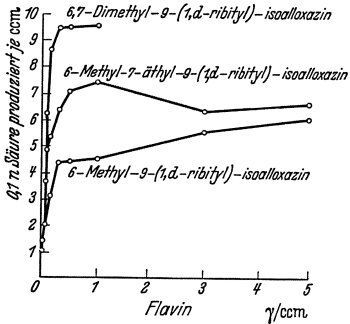


Abb. 47. Wirkung verschiedener Flavine auf *Bacillus lactis acidii*. (Nach ELVEHJEM und STRONG, aus KARRER.)

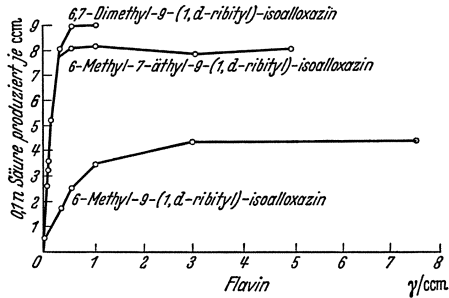


Abb. 48. Wirkung verschiedener Flavine auf *Lactobacillus casei*. (Nach ELVEHJEM und STRONG, aus KARRER.)

(d-ribityl)-isoalloxazin und um das etwas weniger wirksame 6-Methyl-9-(d-ribityl)-isoalloxazin (Abb. 47 und 48).

Lactobacillus casei wurde als Test für die Bestimmung des Lactoflavins in der Milch vorgeschlagen.

C. Die thermostabilen Faktoren der Milchsäurebazillen — Vitamin B₆, „Bios“.

Über die Natur des zweiten wirksamen Faktors im Milcheluat geht aus den Untersuchungen von ORLA-JENSEN nichts Bestimmtes hervor. MÖLLER (1938), der mit *Bacillus acetylcholini* arbeitete, stellte fest, daß neben dem Lactoflavin noch zwei andere Faktoren notwendig sind. Der eine ist stickstoffhaltig, ätherlöslich, säure- und alkalilabil, der andere lauge- und säurebeständig und thermostabil. Dieser letztere kommt in Peptonen, in der Hefe und im Urin vor. MÖLLER identifiziert einen thermostabilen Faktor mit dem letzthin isolierten Adermin, Vitamin B₆, C₈H₁₁O₃NCl (KUNH und WENDT, KERESZTESY und STEVENS). Es ist in Dosen von 0,1—0,5 γ pro Kubikzentimeter aktiv.

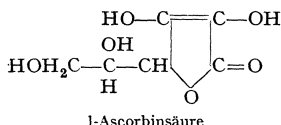
Das Vitamin B₆ gehört zu den auf Mikroorganismen wirkenden Wachstumsfaktoren. Es fördert nach MÖLLER auch die Entwicklung anderer Milchsäurebakterien und Hefen. Dagegen ist es für *Ustilago violacea* und *Phycomyces blakesleeana* ganz unwirksam und für einen Stamm von *Rhodotorula flava* nur sehr schwach aktiv (SCHOPFER, unveröffentlicht). Der Thallus von *Phycomyces* enthält nach Untersuchungen von A. JUNG und SCHOPFER das Vitamin B₆ in deutlich nachweisbaren Mengen. Der Pilz vermag es also selber zu synthetisieren. Damit steht wohl die Tatsache im Zusammenhang, daß *Phycomyces* auf dieses Vitamin

nicht reagiert. Die Rolle des Adermins bei den Mikroorganismen ist noch unbekannt.

Besser orientiert sind wir über den Mechanismus der Wirkung des Lactoflavins. *Bacillus Delbrückii* (*Thermobacterium cereale* von ORLA-JENSEN) ist durch seinen hohen Gehalt an diesem Vitamin bekannt. Bei diesem Bakterium spielt das gelbe Ferment, dessen aktive Gruppe das Lactoflavin darstellt, die Rolle eines Sauerstoffüberträgers bei Anaerobiose. ORLA-JENSEN konnte zeigen, daß streng anaerobe Formen mehr Lactoflavin verlangen als solche mit teilweise aerober Lebensweise. Eine Wirkung der Ascorbin- und Nicotinsäure wurde durch RAHN und HEGARTY angedeutet.

IX. Ascorbinsäure.

Die Bedeutung der Ascorbinsäure als Wachstumsfaktor für Mikroorganismen ist noch sozusagen unbekannt. Die Kultur der Flagellate *Schizotrypanum cruci* (Trypanosomiden) bietet auf Blutnährböden keine Schwierigkeiten. Dagegen gelingt sie nach M. LWOFF (4) in Peptonwasser nur bei Zusatz von Serum (das unbekannte Wachstumsfaktoren enthält), Hämatin und Ascorbinsäure. Das gleiche gilt für *Leishmania tropica* und *L. donovani*.



R. CAILLEAU zeigte, daß zur Kultur von *Trichomonas columbae* (1) und *T. foetus* (2) Cholesterin notwendig ist. Beide Arten verlangen außerdem noch Ascorbinsäure (2, 3). Diese Substanz scheint unentbehrlich zu sein, doch wissen wir nichts über den Grad der Spezifität, Wirkungsweise und Grenzen der Wirksamkeit. Die Ascorbinsäure nimmt überhaupt unter den Vitaminen im engeren Sinne eine besondere Stellung ein.

X. Carotin und A-Vitamine.

Das A-Vitamin scheint in den Pflanzen nicht vorhanden zu sein. Dagegen sind die Carotinoide reichlich vertreten. Durch den hohen Gehalt an diesen Substanzen läßt sich die Wirksamkeit einer Diatomee, *Nitzschia closterium* (JAMESON, DRUMMOND und COWARD) oder einer *Chlorella* [COWARD (1)] erklären.

Die Schimmelpilze bilden in Reinkultur auf synthetischen Substraten häufig Carotinoide. *Phycomyces* synthetisiert sie in Nährlösungen mit Vitamin in bedeutenden Mengen, hauptsächlich in Form von β -Carotin [SCHOPFER (9)]. Der Gehalt an diesen Stoffen wird durch die Zusammensetzung und die Konzentration der Nährlösung bedingt. Auch in den untergetauchten Myzelien, die ohne Zusatz von Aneurin entstehen, ist Carotin enthalten. Myzelextrakte, die Carotin enthalten, zeigen eine deutliche Wirksamkeit des A-Vitamins [SCHOPFER und JUNG (2)] (Abb. 49).

Auch in roten Hefen (*Torula*) sind Carotinoide vorhanden. Für *Torula rubra* wies LEDERER 4 Pigmente nach: Drei Kohlenwasserstoffe (β -Carotin, Torulen und ein nicht identifiziertes Pigment) sowie ein Pigment von saurem Charakter, das in verschiedener Hinsicht mit dem Astacin übereinstimmt. FROMAGEOT und JOUÉ LÉON TCHANG (1) fanden bei *Rhodotorula sarniei* 8 Carotinoide, darunter 7 neutrale Pigmente, von denen β - und γ -Carotin, Lycopon und Torulen identifiziert werden konnten, und ein saures Carotinoid, das dem von LEDERER entspricht. In 1 g Hefe, die bei 110° getrocknet wurde, sind 10 γ Carotin, 143 γ Torulen und 29000 γ des sauren Pigmentes enthalten. Das β -Carotin von *R. sarniei* wirkt als A-Vitamin (TCHANG-JOUÉ und P. CHAIX).

Nach INGRAHAM und STEENBOCK synthetisiert *Mycobacterium phlei* bedeutende Mengen von Carotinoiden: α -Carotin, β -Carotin, Cryptoxanthin, Ester des Luteins, Zeaxanthin und Azafrin. Besonders reichlich werden diese Pigmente in Anwesenheit von Glycerol gebildet, das Trockengewicht wird dabei nicht in gleichem Maße erhöht.

Die Bedeutung des Carotins für die Mikroorganismen ist noch unbekannt. Eine besondere Wirkung übt nach MOEVUS ein Carotinoid auf *Chlamydomonas eugametos* aus. Das Crocin (Di-gentiobiiose-Ester des Crocetins) spielt hier eine Rolle als Beweglichkeitsstoff. Es löst bei unbeweglichen Zellen die Geißelbildung aus. Das Crocin wirkt bis zu einer Verdünnung von 1:250000000000000; somit genügen schon wenige Moleküle für eine Flagellanzelle.

In bestimmtem Verhältnis gemischt wirken Ciscrocetindimethylester und Transcrocetindimethylester zusammen als Kopulationsstoffe. Die unterste Grenze der Aktivität liegt bei einer Verdünnung von 1:33000000.

Die Faktoren X und V der hämophilen Mikroorganismen¹.

1892 gelang es PFEIFFER, *Hemophilus influenzae* auf Blut- oder Hämoglobinährböden zu kultivieren. Einige Jahre später zeigte GRASSBERGER, daß diese Bakterien durch Staphylokokken stark stimuliert werden. Eine Wirkung fördernder Substanzen konnte schon vorausgesehen werden.

¹ Für die historische Entwicklung vgl. SCOTT: System of Bacteriology, KNIGHT: Bacterial Nutrition (2), SERGENT, M. LWOFF (1), KNORR.

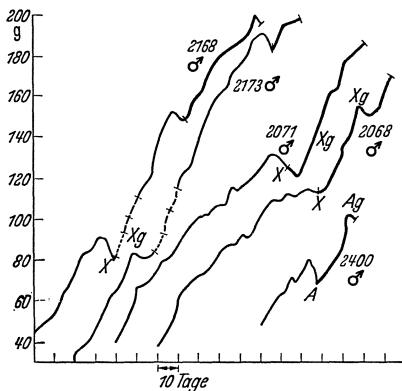


Abb. 49. Wirkung des *Phycomyces*-Extraktes auf die Ratte (in Avitaminose A): — Grundfutter AB + 0,4 g Trockenbierhefe, Grundfutter + 0,5 g/Tag *Phycomyces*-Extrakt, trocken, — — — Grundfutter + 0,1 g/Tag *Phycomyces*-Extrakt, trocken, ——— Grundfutter + 0,05 cm Myzel-extrakt in Kokosöl. [Nach SCHOPFER und JUNG (2).]

Versuche, das Blut in den Nährböden durch andere Stoffe zu ersetzen, führten nicht zu befriedigenden Ergebnissen, bis DAVIS 1917 (1) die fördernde Wirkung verschiedener pflanzlicher Substanzen, die dem Blutnährboden zugesetzt wurden, erkannte. Er unterschied zwei Faktoren. Der eine (Faktor X) wird durch das Blut geliefert, der zweite ist in den tierischen und pflanzlichen Geweben vorhanden.

Der letztere ist auch im PFEIFFERSchen Bazillus selber enthalten, wenn dieser mit anderen hämophilen Arten zusammen gezüchtet wird. Die Existenz dieser zwei Faktoren wurde von verschiedenen Autoren bestätigt. OLSEN kam zum Schlusse, daß das Hämatin den aktiven Faktor des Blutes darstelle. Oxyhämoglobin, Methämoglobin, Carboxyhämoglobin, Hämatin und Hämin sind aktiv; Hämatoporphyrin, Hämozyanin, Bilirubin, Chlorophyll und Pyrrol dagegen nicht. THJÖTTA (1, 2) und THJÖTTA und AVERY (1, 2) unterscheiden die beiden Faktoren nach ihren allgemeinen Eigenschaften. Der Faktor X ist derjenige des Blutes, der zweite wird als Faktor V bezeichnet; er zeigt verschiedene Analogien zu den Vitaminen.

Der Faktor X ist thermostabil und wird durch Erhitzen auf 120° während 20 Minuten nicht zerstört. Er ist auch in hohen Verdünnungen wirksam. Der Faktor V ist dagegen nicht hitzebeständig, er erträgt eine Temperatur von 100° nicht länger als 10 Minuten. FILDES machte die wichtige Beobachtung, daß von 14 Stämmen hämophiler Influenzabazillen 13 den Faktor V verlangten und nur ein einziger die Faktoren X und V, wie *B. influenzae*. Ähnliche Feststellungen machten später VALENTINE und RIVERS. FILDES (2) konnte ferner zeigen, daß Arten, die ohne die Faktoren V und X gedeihen, imstande sind, diese selber zu synthetisieren. Auch hier wäre also nach dieser Beobachtung ihre Wirksamkeit auf einen Verlust des Synthesevermögens zurückzuführen.

XI. Der Faktor X: Hämatin.

Durch die Aufdeckung der Beziehungen dieses Faktors zum Blutfarbstoff war aber seine eigentliche Natur noch lange nicht abgeklärt. Da das eisenfreie Hämatoporphyrin inaktiv ist, könnte man an eine fördernde Wirkung des Eisens denken.

Ferner könnte die Bedeutung des Hämoglobins als Wachstumsfaktor mit seiner Peroxydasewirkung in Zusammenhang gebracht werden.

Diese Fragen wurden endgültig durch A. LWOFF (2) beantwortet, der zeigte, daß für die Flagellate *Strigomonas fasciculata* das Protohämin den wirksamen Wachstumsfaktor darstellt. Das aktive Eisen von BAUDISCH hat keine fördernde Wirkung [M. LWOFF (2)]. In gleicher Richtung gehen die Versuche von M. LWOFF (1) mit *Strigomonas fasciculata* und *Leptomonas ctenocephali*. *Strigomonas oncopelti* verlangt Aneurin aber nicht Hämatin (s. S. 54).

Die Wirkung des Blutes ist quantitativ (Abb. 50, S. 127).

A. Hämatinbedürftige Organismen.

Für folgende Organismen zeigte sich eine Abhängigkeit von Hämatin: *Hemophilus influenzae* (OLSEN), *Hemophilus conjunctivitis* (P. FILDES), *Hemophilus canis* (RIVERS), *Hemophilus ducreyi* (A. LWOFF und J. PIROSKY), *Strigomonas muscidarum* (M. LWOFF), *Strigomonas culicidarum* var. *anophelis* (M. LWOFF), *Strigomonas fasciculata* (M. LWOFF), *Leptomonas ctenocephali* (M. LWOFF), *Leishmania tropica* (M. LWOFF), *Leishmania donovani* (M. LWOFF), *Leishmania ceramodactyli* (M. LWOFF), *Schizotrypanum cruzi* (M. LWOFF) [s. A. LWOFF (5)].

Auf *Hemophilus influenzae* wirkt das Blut bis zu einer Verdünnung von 1:4—5 000 000, was einer Hämatinkonzentration von $1 \cdot 10^{-9}$ entspricht.

Eine Flagellate (*Strigomonas*) benötigt 520000 Hämatinmoleküle [A. LWOFF (2)].

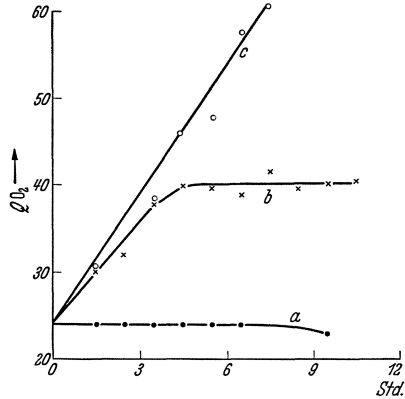


Abb. 50. Quantitative Wirkung des Blutes auf die Atmung von *Strigomonas fasciculata*. a Kontrolle 0,45 mg Flagellaten, b dasselbe mit 2,5 γ Blut, c dasselbe mit 10 γ Blut. Ordinate O₂, Abszisse Zeit in Stunden. [Nach A. LWOFF (2).]

B. Spezifität der Wirkung.

Für *Strigomonas fasciculata* wurde folgende Spezifität der Wirkung beobachtet:

Tabelle 26. Einfluß verschiedener Substanzen auf die Atmung und Vermehrung von *Strigomonas fasciculata*. (Aus A. LWOFF 1938.)

	Peroxydase-reaktion	Atmung ¹	Vermehrung ²
Blut	+	+	+
Hämatin	+	+	+
Protohämin	+	+	+
Deuterohämin	+	0	0
Hämatohämin	+	0	0
Mesohämin	+	0	0
Pyrrhohämin	+	0	0
Phäophorbid-a-hämin	+	0	0
Phäophorbid-b-hämin	+	0	0
Cytochrom C	+	0	0
Protoporphyrin	0	+	+
Deuteroporphyrin	0	0	0
Hämatoporphyrin	0	0	0
Mesoporphyrin	0	0	0
Ätioporphyrin	0	0	0
Pyroporphyrin	0	0	0
Phäophorbid a	0	0	0
Rhodin, aus Chlorophyll b	0	0	0
WOLFFSche Peroxydase	+	0	0
Aktiviertes Eisen von BAUDISCH	+	0	0

Vermehrung und Atmung werden in gleicher Weise gefördert.

¹ Nach A. LWOFF (1934, 1938). ² Nach M. LWOFF (1933).

Hervorzuheben ist hier, daß Protoporphyrin, obschon es kein Eisen enthält und keine Peroxydasewirkung zeigt, doch aktiv ist wie Hämatin. Hämatoporphyrin ist nicht unwirksam, weil es kein Eisen enthält, sondern aus strukturellen Gründen [LWOFF (2, 5)]. Die Unwirksamkeit des Eisens wird auch durch die Tatsache bestätigt, daß das eisenhaltige Hämatohämin keine Förderung bewirkt. Die Spezifität der Wirkung ist also ausgeprägt.

C. Wirkungsweise des Hämatins. Seine Beziehungen zum Cytochrom.

Dank der Untersuchungen von LWOFF über *Strigomonas fasciculata* sind wir in der Lage, den Mechanismus der Hämatinwirkung zu präzisieren. Die Zunahme der Atmungsintensität steht in direkter Beziehung mit der gebotenen Häminmenge. Diese Substanz muß folglich an der Herstellung eines katalytischen Atmungssystems teilnehmen. Durch KEILIN wissen wir, daß das Hämin C des Cytochroms sich aus dem Protohämin bildet. Protohämin stellt die prosthetische Gruppe der Katalase und der Peroxydase dar.

Der Nachweis dieser Beziehungen stützt sich auf folgende Tatsachen [LWOFF (2)]: Cytochrom C (Präparat von KEILIN und HARTREE) ist auf Flagellaten unwirksam. Wird es aber einem Nährboden beigefügt, der suboptimale Blutmengen enthält, so erhöht sich die Teilungsrate beträchtlich. Gegenüber der Kontrolle, die nur Blut enthält, ist sie doppelt so groß. Diese Resultate wurden mit *Hemophilus canis* bestätigt.

Diese Organismen benützen nach LWOFF einen Teil des Protohämins, das ihnen geboten werden muß, zur Synthese der prosthetischen Gruppe des Cytochroms. In Gegenwart von Cytochrom C wird die Reaktion Protohämin-Hämin C, wenigstens teilweise, blockiert, und eine wichtige Fraktion, die in Abwesenheit von Cytochrom normalerweise in Hämin umgesetzt wird, bleibt für andere Zwecke verwendbar.

Die Unfähigkeit, Protohämin zu synthetisieren, verbunden mit dem Fehlen des Cytochroms, führt folglich zu einer Vervollständigung der Atmung. Die Kombination des Sauerstoffes mit dem durch das Dehydrasen-Codehydrasensystem (WIELAND, THUNBERG und WARBURG) aktivierten Wasserstoff wird unmöglich (s. S. 131).

Hemophilus influenzae ist nur in Aerobiose auf Hämatin angewiesen. Es ist bekannt, daß Stämme dieser Art in Anaerobiose mit dem Faktor V allein auskommen (s. S. 129).

Die Funktion des Hämatins ist bei *Hemophilus influenzae* dieselbe wie bei *Strigomonas fasciculata* [A. und M. LWOFF (5)].

Man findet also beim Hämatin alle Eigenschaften eines Wachstumsfaktors: Quantitative Wirkung in sehr geringer Konzentration, ausgeprägte, konstitutionsspezifische Wirkung; die Notwendigkeit ist durch den Verlust des Synthesevermögens bedingt. „Dies ist die Definition der Vitamine“ [LWOFF (2)].

XII. Der Faktor V: Codehydrasen.

Ganz anderer Natur ist der Faktor V [THJÖTTA und AVERY, THJÖTTA (2)], der in der Hefe, in roten Blutkörperchen und in tierischen und pflanzlichen Geweben vorkommt. Es ist bekannt, daß er durch Erhitzen in alkalischer Lösung zerstört wird (FILDES).

Hemophilus parainfluenzae entwickelt sich in Peptonwasser nur bei Zusatz des Faktors V aus Hefeextrakt (1 Teil Hefe auf 1 Teil destilliertes Wasser). Dieses Extrakt wirkt bis zu einer Verdünnung von 1 : 10000.

Nach seinen Eigenschaften: Nicht fällbar durch Bariumazetat bei p_H 8,5, nicht fällbar durch Bleiazetat bei p_H 6,8, wohl aber gut bei p_H 9,7, fällbar durch Quecksilbernitrat bei p_H 7 und durch Alkohol, widerstandsfähig gegen Austrocknung im Vakuum, stellen A. und M. LWOFF (1, 4) Beziehungen zu den Cohydrogenasen fest, nämlich zum Coenzym von WARBURG und CHRISTIAN (Codehydrase II von v. EULER) und Cozymase von HARDEN und YOUNG (Codehydrase I von v. EULER + Cophosphorylase?).

Ein weitgehend gereinigtes Coenzym von WARBURG wirkt noch in einer Verdünnung von 1 : 30000000; dies entspricht einer tatsächlichen Verdünnung des Coenzymes von 1 : 100000000. *Hemophilus parainfluenzae* reagiert schon auf eine Dosis von 0,04 γ Codehydrase auf 1 ccm Peptonwasser.

A. Wirkungsweise des Faktors V (Cozymase).

Ohne Zusatz des Faktors V vermögen die Bakterien Glukose, Hexosemonophosphorsäure, Fumarsäure, Brenztraubensäure, Äpfelsäure, Äthylalkohol, d- und l-Valin

sowie Asparagin nicht zu oxydieren [A. und M. LWOFF (2, 4)]. Die Methylenblaureduktion in THUNBERG-KEILIN-Röhren erfolgt sehr langsam. Durch Zusatz von Codehydrasen kann sie auf das 30fache erhöht werden.

Die Oxydation der Laktate und der Bernsteinsäuresalze erfolgt hier wie auch bei Hefen ohne Codehydrase.

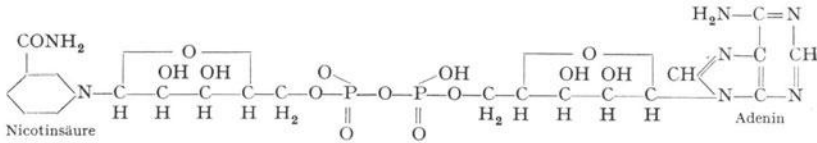
Der Hauptbestandteil der Cozymase von HARDEN und YOUNG ist die Codehydrase I von

Tabelle 27. Wirkung des Faktors V (Codehydrase) auf die Methylenblaureduktion durch Bakterien. [Nach A. und M. LWOFF (2, 4).]

	Geschwindigkeit der Methylenblaureduktion durch die Bakterien in Peptonwasser ¹	
	ohne Codehydrase	mit Codehydrase
Kontrolle	0	0
Glukose	3	100
Brenztraubensäure	0,15	9
Fumarsäure	0,15	5,5
Äpfelsäure	0,15	5
Äthylalkohol	0,15	7
Asparagin	0,15	5
d-Valin	0,15	2,3
l-Valin	0,15	2,3
d-l-Lactat	13	17
Bernsteinsäure	6	13

¹ Die Geschwindigkeit der Reduktion wurde für Glukose auf 100 angesetzt.

v. EULER. Diese besteht aus einem Molekül, einer Purinbase, dem Adenin, zwei Molekülen Pentose, zwei Molekülen Phosphorsäure und dem Amid der Nicotinsäure. Die Codehydrase II (Coferment von WARBURG) hat eine ähnliche Zusammensetzung, enthält aber drei Moleküle Phosphorsäure.



Die Bindungsart der Nicotinsäure ist in beiden Codehydrasen gleich. Diesem Bestandteil der Codehydrase kommt die wasserstoffübertragende Wirkung zu (s. S. 87).

Eine reziproke Umwandlung der beiden Codehydrasen ist möglich (EULER und ADLER). Durch Dephosphorylierung der Codehydrase II erhält man die Codehydrase I. Die entgegengesetzte Umwandlung kann auf chemischem oder enzymatischem Wege erfolgen.

Hemophilus parainfluenzae vermag diese Transformationen ebenfalls auszuführen [A. und M. LWOFF (2, 4)]. Der Organismus enthält beide Dehydrasen. Diese wirken auf ihre spezifischen Substrate und verschwinden erst, wenn letztere in der Nährlösung vorhanden sind.

Bakterien, die auf Peptonen oder Peptonen mit Brenztraubensäure kultiviert werden und die Codehydrase I verloren haben, sind noch imstande, das Hexosemonophosphat zu oxydieren. Die Codehydrase II (Coferment von WARBURG) muß also noch vorhanden sein. Diese verschwindet erst, wenn die Bakterien weiter mit Zugabe von Hexosemonophosphat kultiviert werden.

Die Umsetzung der beigefügten Codehydrasen kann erfolgen, wenn sie absorbiert werden und noch im freien Zustande sind. Sind sie dagegen mit den spezifischen Apozymasen kombiniert, so geht die Transformation nur langsam vor sich, oder sie ist überhaupt nicht mehr möglich (Abb. 51).

Weitgehend gereinigte Präparate von Cozymasen üben eine vitaminische Wirkung aus. In Gegenwart der Vitamine B₁ und B₂ funktionieren sie als wasserlösliche Vitamine (v. EULER, MALMBERG und Mitarbeiter). In diesem Falle ist ihre Aktivität wahrscheinlich auf die Nicotin-

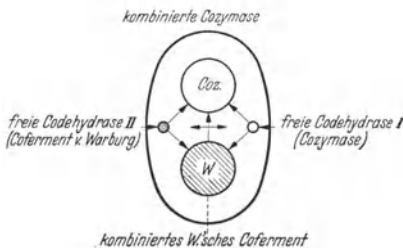


Abb. 51. Beziehungen zwischen „freien“ und „kombinierten“ Codehydrasen I (Cozymase) und II (WARBURG-sches Coferment). [Nach A. und M. LWOFF (4).]

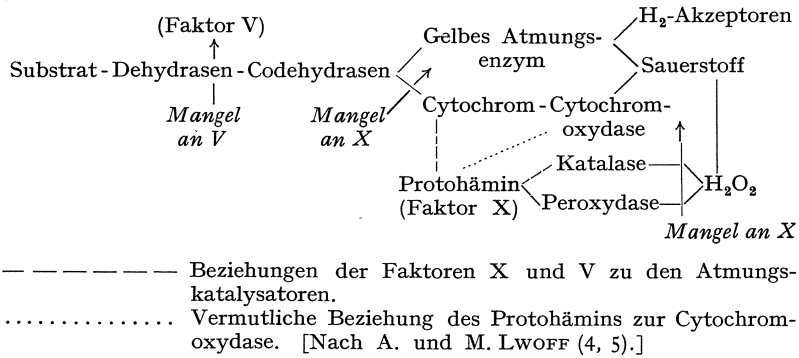
säure (oder ihr Amid) zurückzuführen, die nach ELVEHJEM, MADDEN und Mitarbeiter ein Bestandteil des Antipellagrakomplexes ist (vgl. Nicotinsäure).

Die isolierten Bestandteile der Codehydrasen (Adenylsäure der Hefe und des Muskels, Nicotinsäure und ihr Diäthylamid) wirken nicht auf *Hemophilus parainfluenzae*. Die Notwendigkeit des Faktors V ist dadurch bedingt, daß der Organismus die Synthese des gesamten Codehydrasekomplexes nicht mehr auszuführen vermag.

Der Faktor V entspricht den Codehydrasen, die an der ersten Stufe der Dehydrierung wirken müssen (WIELAND, THUNBERG). Man versteht ohne weiteres, daß durch die Unfähigkeit, die Codehydrasen zu synthetisieren, die Bahn des Wasserstoffes in Aerobiose wie in Anaerobiose gesperrt wird. In diesem Prozeß spielt das Hämatin keine Rolle; wir wissen, daß *Hemophilus parainfluenzae* dieses zu synthetisieren vermag.

B. Die Faktoren X und V und das Keilin-Warburgsche System.

Die Beziehungen zwischen den Faktoren X, V und dem Atmungssystem können wir mit LWOFF (auf Grund der Arbeiten von KEILIN, WARBURG, WIELAND) im Rahmen des KEILINSchen Systems folgendermaßen darstellen:



XIII. Die Nicotinsäure.

Wie HUGHES zeigte, kann *Staphylococcus aureus* auf synthetischen Nährböden nur mit Zugabe gewisser unbekannter Substanzen kultiviert werden. Das Wachstum erfolgt in einer Nährlösung, die hydrolysiertes Kasein und 0,001 % Fleischextrakt enthält. Dieses allein ist in Dosen unterhalb 0,5 % unwirksam. HUGHES gelang es, dieses Extrakt so weit zu konzentrieren, daß ein Teil auf 50000000 Teile des hydrolysierten Gelatinenährbodens schon eine gute Entwicklung ergab.

Unabhängig davon stellte KNIGHT (1) fest, daß Hefe (Marmite) für *Staphylococcus* eine ausgezeichnete Quelle von Wachstumsfaktoren ist.

Der von KNIGHT verwendete Nährboden besteht aus Natriumzitat, saurem Kaliumphosphat, Cystin und Tyrosin sowie aus hydrolysierte Gelatine. Aus 2 kg Hefe erhielt er nach verschiedenen Fällungen 54 g eines aktiven Produktes (also 2,7% des Ausgangsmaterials). Die Substanz ist eine Base von gelblicher Farbe, die bei 0,001 mm Quecksilberstand und 105° destilliert werden kann. Dieses aktive Destillationsprodukt wurde nach verschiedenen Gesichtspunkten untersucht: Unter anderem ist die Reaktion mit 2-4-Dinitro-1-chlorbenzol positiv, was darauf schließen läßt, daß ein Pyridinderivat vorhanden sein muß [KNIGHT (3)].

Ein Cozymaseprodukt (Faktor V) ist in einer Dosis von 0,2 γ pro ccm aktiv. Weiterhin wurde nun die Nicotinsäure, ein Abbauprodukt der Cozymase, geprüft. Diese kann das Destillationsprodukt in seiner Wirkung ersetzen. Dasselbe gilt für das Nicotinsäureamid. Dabei konnte KNIGHT nachweisen, daß die Wirkung nicht auf eine Verunreinigung zurückgeführt werden kann. Dieser *Staphylococcus*-Faktor ist allerdings von komplexer Natur. Aneurin, an das man in erster Linie denken könnte, ist für sich allein nicht wirksam, erst mit Nicotinsäure zusammen bedingt es eine befriedigende Entwicklung [KNIGHT (3, 4)].

Tabelle 28. Wirkung der Nicotinsäure (in Gegenwart von Aneurin, $2 \cdot 10^{-7}$ mol pro 10 ccm). [Nach KNIGHT (4).]

Nicotinsäure γ pro 10 ccm Nährlösung	Konzentration in mol	Entwicklung nach		
		22 Stunden	27 Stunden	46 Stunden
100	$8,2 \cdot 10^{-5}$	++	++++	++++
20	$1,6 \cdot 10^{-5}$	++	++++	++++
4	$3,3 \cdot 10^{-6}$	++	++++	++++
0,8	$6,6 \cdot 10^{-7}$	++	++++	++++
0,16	$1,3 \cdot 10^{-7}$	Sp.	++	+++
0,032	$2,6 \cdot 10^{-8}$	Sp.	+	+

++++ maximale Entwicklung. + schwache Entwicklung, Sp. Spuren, kaum sichtbare Entwicklung.

Nicotinsäure wirkt für *Staphylococcus* in Aerobiose unzweifelhaft als Wachstumsfaktor. Noch bei einer Konzentration von $2,6 \cdot 10^{-8}$ ist eine Förderung nachweisbar.

Die Wirkung der Nicotinsäure auf *Staphylococcus* wurde durch LANDY (1938), KOSER, DORFMAN und SAUNDERS (1) wie auch durch KÖGL und VAN WAGTENDONCK bestätigt. Diese letzteren Autoren wiesen nach, daß durch Zusatz von Biotin die Wirkung der Nicotinsäure und des Aneurins noch sehr stark erhöht werden kann.

12 typische Stämme von *Staphylococcus* verhielten sich gleich. Auch gewisse Dysenteriebazillen (FLEXNER, HIS Y und STRONG) verlangen Nicotinsäure [KOSER, DORFMAN und SAUNDERS (1)], ebenso *Bac. proteus*, für den dieser Wachstumsfaktor allein wirksam ist [FILDES (5)].

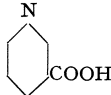
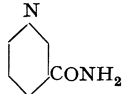
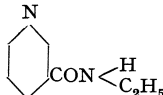
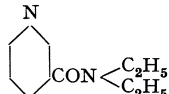
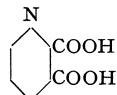
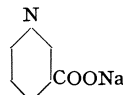
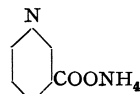
A. Spezifität der Wirkung.

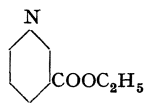
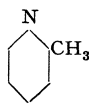
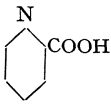

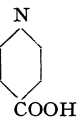
Die Spezifität der Wirkung der Nicotinsäure wurde von KNIGHT (4), KNIGHT und MACILWAIN und LANDY untersucht. Die Ergebnisse dieser Autoren sind in Tabelle 29 zusammengestellt.

Tabelle 29. Wirkung verschiedener Derivate der Nicotinsäure (in Gegenwart von 0,05 γ Aneurin). (Nach LANDY.)

γ je 10 ccm Lösung	Nicotinsäurederivate (s. unten)											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
20	++++	++++	++++	-	-	++++	++++	++++	-	-	-	-
15	++++	++++	++++	-	-	++++	++++	++++	-	-	-	-
10	++++	++++	++++	-	-	++++	++++	++++	-	-	-	-
5	++++	++++	++++	-	-	++++	++++	++++	-	-	-	-
2,5	++++	++++	++++	-	-	++++	++++	++	-	-	-	-
1	+++	++++	++	-	-	+++	+++	\pm	-	-	-	-
0,5	++	++++	+	-	-	++	++	-	-	-	-	-
0,1	\pm	++	-	-	-	\pm	-	-	-	-	-	-
0,05	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0,01	-	\pm	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

++++ Maximale Entwicklung nach 49 Stunden bei 37,5°. \pm Spuren.

1. β -Pyridincarbonsäure (Nicotinsäure)  KNIGHT (4), LANDY
2. Pyridin- β -carbonsäure-amid  KNIGHT, LANDY
3. Pyridin- β -carbonsäure-äthylamid  LANDY
4. Pyridin- β -carbonsäure-diäthylamid (Coramin)  LANDY, KNIGHT und MACILWAIN
5. α,β -Pyridindicarbonsäure  LANDY
6. Pyridin- β -carbonsaures Na  LANDY
7. Pyridin- β -carbonsaures NH₄  LANDY

8. Pyridin- β -carbonsäure-äthylester		LANDY
9. 2-Methylpyridin		LANDY
10. α -Pyridincarbonsäure (Picolinsäure)		LANDY, KNIGHT und MACILWAIN
11. 4-Methylpyridin		LANDY
12. γ -Pyridincarbonsäure (Isonicotin- säure)		LANDY, KNIGHT und MACILWAIN

Schwach aktiv: Pyridin- β -carbonsäure-methylester (KNIGHT und MACILWAIN). Inaktiv sind: 7 Pyridinderivate nach KNIGHT und MACILWAIN, unter andern ferner Trigonellin.

Der Dysenteriebazillus reagiert wie *Staphylococcus* positiv auf Nicotinsäure sowie Methyl- und Äthylester der Nicotinsäure [KOSER, DORFMAN und SAUNDERS (1)].

B. Wirkungsweise.

Für die Mikroorganismen wurde noch nicht experimentell festgestellt, wie die Nicotinsäure in den Stoffwechsel eingreift. Aus Analogie zum Tier, wo die Cozymase wie auch ihr Spaltungsprodukt, die Nicotinsäure, eine vitaminische Funktion besitzt (Antiblack-tongue-Faktor), scheint es sehr wahrscheinlich, daß sie für die Mikroorganismen dieselbe Bedeutung haben könnte. Wir wissen, daß die Cozymase auch bei *Staphylococcus aureus* in gleicher Weise wie Nicotinsäure wirkt. Das Bedürfnis nach Nicotinsäure wäre darauf zurückzuführen, daß diese Organismen die Fähigkeit, Cozymase zu bilden, teilweise verloren hätten. Das Nicotinsäureamid ist der H-übertragende Anteil der Cozymase (WARBURG, CHRISTIAN und GRIESE, siehe S. 87 und 130).

LWOFF und QUERIDO machen den Vorschlag, *Bac. proteus* als Test für die Antipellagravitamine zu benutzen. Damit kann die Gesamtheit der für das Tier aktiven Substanzen (Nicotinsäure und ihre Derivate) erfaßt werden. Abgesehen von Diäthylamid der Nicotinsäure sind alle Antipellagrassubstanzen für *Bac. proteus* auch wirksam.

XIV. Die Aminosäuren als Bakterienwirkstoffe.

Für die aerobiotische Kultur von *Staphylococcus* stellten FILDES, RICHARDSON, KNIGHT und GLADSTONE eine synthetische Nährlösung zusammen, die 14 Aminosäuren enthält: Alanin, Valin, Leucin, Glycin, l-Prolin, l-Oxyprolin, Asparaginsäure, d-Glutaminsäure, Methionin, Phenylalanin, l-Tyrosin, d-Arginin HCl, Histidin HCl und Lysin. Durch eine Art "Training" gelang es GLADSTONE, seine Stämme in der Weise anzupassen, daß sie nach und nach ohne Zusatz von Aminosäuren wuchsen. Sie erwarben also die Fähigkeit der Synthese dieser Substanzen wieder und konnten mit Ammoniak allein als Stickstoffquelle kultiviert werden. Diese Aminosäuren sind also nur während einer gewissen Zeit der Anpassung unentbehrlich [für *Cl. sporogenes*, siehe FILDES und RICHARDSON (1)].

Bacillus botulinus wie auch *Bacillus sporogenes* verlangen einen weiteren Wachstumsfaktor, der als „sporogenes Vitamin“ bezeichnet wurde [KNIGHT und FILDES (2), PAPPENHEIMER]. Bei diesen Arten wird das Wachstum nur in Gegenwart von Tryptophan [FILDES (4), FILDES und KNIGHT], das hier absolut unentbehrlich ist, ausgelöst.

Es stellt sich nun die Frage, ob diese Substanzen als Wachstumsfaktoren in unserem Sinne zu betrachten sind. Die Aminosäuren werden hier in viel höheren Konzentrationen beigefügt als etwa Aneurin oder Nicotinsäure. FILDES gibt für die Aminosäuren die untere Wirkungsgrenze bei Konzentrationen von mol/1500 an, nur für Methionin liegt sie bei mol/4000. GLADSTONE brauchte dieselben Substanzen wie FILDES und daneben noch Tryptophan in Konzentrationen von mol/20000, Cystin mol/10000 und Methionin in mol/50000. Für Aneurin wurde eine Dosis von $1 \cdot 10^{-7}$ mol angewendet.

Diese Mengen sind, verglichen mit dem Gewicht der Bakterien, ziemlich bedeutend; sicher dienen die Aminosäuren hier als Nährstoffe und sind am Aufbau der spezifischen Proteine beteiligt. Sie können deshalb nicht ohne weiteres als Wachstumsfaktoren bezeichnet werden. Ebenso kann die Wirkung dieser Stoffe auf *Staphylococcus* nicht ohne Vorbehalt mit derjenigen bestimmter Aminosäuren auf Hefe in Beziehung gebracht werden.

XV. Uracil.

In Anaerobiose benötigt *Staphylococcus Brenztraubensäure* und einen Wachstumsfaktor, der von FILDES, KNIGHT und GLADSTONE (1936) als Faktor III bezeichnet wurde. RICHARDSON, der diese Substanz aus Hefe isolieren konnte, kam zum Schlusse, daß es sich um Uracil (2-6-Dioxy-pyrimidin) handle. Dieser Faktor wird von *Staphylococcus* in Aerobiose synthetisiert. Wurden Extrakte aerobiotischer *Staphylococcus*-Kulturen in Verdünnungen von 1:5 und 1:25 einer Nährlösung

ohne Uracil beigefügt, so konnte damit auch in Anaerobiose eine Entwicklung ausgelöst werden.

Uracil ist noch in einer Konzentration von mol/2500000 aktiv. Die Spezifität der Wirkung ist deutlich: Von 32 verwendeten Substanzen ergab sich nur mit Uracil, sowie mit einem Gemisch von Cytosin, Isocytosin, Guanin und Adenin eine Förderung.

RICHARDSON vermutet, daß das Uracil als Bestandteil eines Nukleotides dienen könnte, das in Anaerobiose notwendig ist. Dieses wäre aber von der Cozymase, die ein Adeninnukleotid ist, verschieden.

XVI. Pimelinsäure.

Für eine gute Entwicklung von *Corynebacterium diphtheriae* ist nach J. HOWARD MUELLER und SUBBAROW ein Zusatz von Leberextrakt unentbehrlich. Der wirksame Faktor ist ätherlöslich und kann verestert und destilliert werden. Mit dem sporogenen Vitamin von *Bac. sporogenes* ist er nicht identisch. Er wirkt auf den Stamm Allen und Park 8.

Dieser Faktor ist auch im Urin der Kuh vorhanden und konnte aus diesem Material isoliert und als Pimelinsäure erkannt werden [MUELLER (1)]. Synthetische und natürliche Präparate dieser Substanz haben dieselbe Wirkung.

Spezifität der Wirkung.

Wie aus nachstehender Zusammenstellung hervorgeht, ist die Spezifität deutlich.

Tabelle 30. Wirkung der Pimelinsäure und anderer gesättigter Dicarbonsäuren auf Diphtheriebazillen. [Nach J. H. MUELLER (1).]

		mg N
Grundlösung ¹ (10 ccm)	+ 1 γ Oxalsäure	COOH · COOH 1,08
„	+ 1 γ Malonsäure	COOH · CH ₂ COOH 1,18
„	+ 1 γ Bernsteinsäure	COOH(CH ₂) ₂ COOH 1,06
„	+ 1 γ Glutarsäure	COOH(CH ₂) ₃ COOH 1,00
„	+ 1 γ Adipinsäure	COOH(CH ₂) ₄ COOH 1,92
„	+ 1 γ Pimelinsäure	COOH(CH ₂) ₅ COOH 3,91
„	+ 1 γ Suberinsäure	COOH(CH ₂) ₆ COOH 1,11
„	+ 1 γ Azelainsäure	COOH(CH ₂) ₇ COOH 1,14
„	—	1,10

¹ Grundlösung: Synthetische Nährlösung (Hydrolysat von Kasein, Cystin, Glutaminsäure, NaCl, Na₂HPO₄, MgCl₂, Milchsäure) + die ätherunlösliche Fraktion des Leberextraktes [nach J. HOWARD MUELLER (1)].

Der Bazillus reagiert sehr empfindlich; 0,5 γ Pimelinsäure auf 10 ccm Nährlösung üben schon eine deutliche Wirkung aus (vgl. Abb. 52).

Die ätherunlöslichen Bestandteile des Leberextraktes sind ebenfalls wirksam und können durch fraktionierte Destillation getrennt werden. Die Fraktion mit niederem Siedepunkt kann in ihrer Wirkung durch Nicotinsäure [MUELLER (2)] ersetzt werden; diejenige mit hohem Siedepunkt durch β -Alanin (MUELLER und COHEN). Pimelinsäure oder Nicotinsäure einzeln sind im Gegensatz zu β -Alanin allein inaktiv. Die drei Substanzen zusammen ergeben eine maximale Entwicklung.

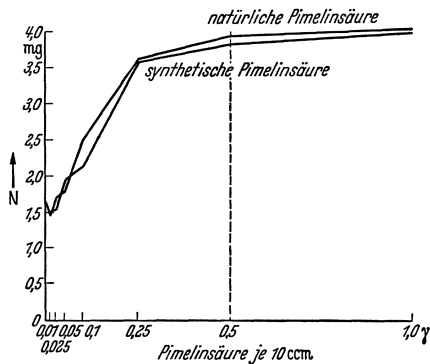


Abb. 52. Wirkung der Pimelinsäure auf *Corynebacterium diphtheriae*. [Nach den Angaben von MUELLER (1).]

Bis jetzt wurde dieser interessante Faktor nur bei Diphtheriebazillen untersucht. Es muß aber daran erinnert werden,

daß SNELL, TATUM und PETERSON sowie WOOD, TATUM und PETERSON schon feststellten, daß gewisse unbekannte organische Säuren für die Entwicklung einiger Milchsäure- und Propionsäurebakterien notwendig sind.

Die Wirkungsweise der Pimelinsäure ist noch nicht abgeklärt.

XVII. Cholesterol.

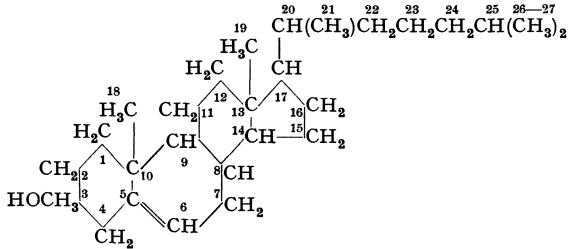
Diese als Wachstumsfaktor wenig bekannte Substanz war Gegenstand einer eingehenden Untersuchung von R. CAILLEAU (1, 2, 3). Sie arbeitete mit Flagellaten aus der Gattung *Trichomonas* (*Tetramitidae*). *Trichomonas columbae* ist auf Taubenserum kultivierbar. Dieses kann nicht durch Albumin, Kasein oder durch abgetötete Bakterien ersetzt werden. Dagegen erwies sich ein Leberextrakt, dem Peptonbouillon zugesetzt wurde, als sehr aktiv. CAILLEAU zeigte, daß der Azetonauszug der Leber einen unentbehrlichen Wachstumsfaktor enthält. Ein weiterer, ebenfalls notwendiger Faktor ist im azetonunlöslichen Rückstande enthalten. Beide zusammen bedingen in Peptonbouillon eine optimale Entwicklung der Flagellaten und können also die Wirkung der Leber vollständig ersetzen. Die zwei Substanzen sind thermostabil.

In Peptonbouillon mit unlöslichem Rückstand der Leber ergab sich mit folgenden Substanzen ein Wachstum: Eigelb, hydrolysiertes Lecithin, Galle, alkoholische Lösung von Cholesterol und schwächer mit Cholinchlorhydrat und Ergosterol. Der in Azeton lösliche Faktor der Leber wurde als Cholesterol identifiziert; die Wirkung einer Verunreinigung ist ausgeschlossen.

Das Cholesterol wird in Form von festen Partikeln aufgenommen. Die wirksame Dosis ist verhältnismäßig hoch (Verdünnung 1:10000).

Eutrichomonas colubrurum und *Trichomonas foetus* verlangen ebenfalls Cholesterol, *Trichomonas foetus* (2) und *columbae* (3) außerdem noch Ascorbinsäure.

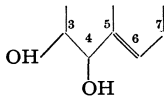
Spezifität der Wirkung.



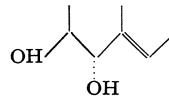
Die Untersuchungen über die Spezifität der Wirkung wurde mit 71 Substanzen durchgeführt [CAILLEAU (1)]. Es sind aktiv: Cholesterol, Cholestanol, Epidihydrocholesterol, Allocholesterol, Cholesterolazetat und -palmitat, 22-Dihydro-ergosterol, α -Ergosterol, γ -Sitosterol, γ -Sito-stanol, Cinchol, cis-Cholestan-3-4-diol, cis- Δ -5:6-Cholesten-3:4-diol und Ergostanol. Schwächer wirken: Ergosterol, α -Dihydroergosterol, das Azetat von γ -Sitosterol und Pyridino-Allocholesterol.

Das Vitamin D₂, Testosteron, Östron, Equilin und Equilenin sowie die anderen verwendeten Substanzen sind unwirksam und erlauben keine fortlaufende Kultur.

Dank der großen Zahl der verwendeten Stoffe ist CAILLEAU in der Lage, die für die Aktivität notwendige Struktur genau anzugeben: Nur die cis-Formen, mit Ausschluß der trans-Formen (Stellung 3 und 4), sind wirksam.

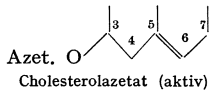


cis- Δ -5:6-Cholesten 3:4-diol (aktiv)

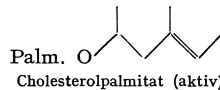


trans- Δ -5:6-Cholesten-3:4-diol (inaktiv)

Durch die Veresterung der Alkoholgruppe in Stellung 3 wird die Wirksamkeit nicht aufgehoben:

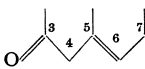


Azet. Cholesterolazetat (aktiv)

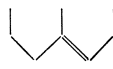


Palm. Cholesterolpalmitat (aktiv)

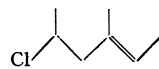
Die Transformation der Alkoholgruppe in 3 zu Keton, die Weglassung der Oxydrilgruppe oder ihre Substitution durch ein Chloratom oder ein Methylradikal heben die Wirksamkeit auf.



Δ -5:6-Cholestenon (inaktiv)

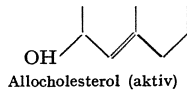


Δ -5-6-Cholesten (inaktiv)

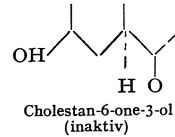
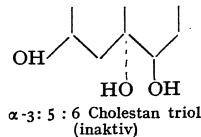
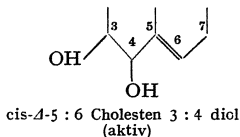


Cholesterol-chlorür (inaktiv)

Die Doppelbindung in 5—6 ist nicht unentbehrlich.



Eine weitere Alkoholgruppe in 4 hebt die Wirksamkeit nicht auf, dagegen kann diese durch eine Alkoholgruppe in 6 oder durch eine Ketongruppe zerstört werden:



Eine Ketongruppe in 7 inaktiviert das Molekül, ebenso eine Epimerisation des Oxydrils in Stellung 3 oder 4 sowie des Wasserstoffs in Stellung 5.

cis-Δ-5:6 Cholesten 3:4 diol : aktiv,
trans-Δ-5:6 Cholesten 3:4 diol : inaktiv.

Doppelbindungen in C⁴—C⁵, C⁷—C⁸ oder C⁸—C¹⁴ im zyklischen Teil des Moleküls heben die Wirksamkeit nicht auf, ebensowenig eine Doppelbindung oder eine Verzweigung der Seitenkette.

Eine Verkürzung der Seitenkette, die zu den Gallensäuren überleitet, sowie ihre Abtrennung, die zu den Geschlechtshormonen führt, machen das Sterol inaktiv.

Die verminderte Aktivität des Ergosterols ist auf die Doppelbindung in 22—23 zurückzuführen, während die Unwirksamkeit des Vitamins D₂ wahrscheinlich auf der Epimerisation der Oxydrylgruppe in 3 beruht.

Über die physiologische Rolle des Cholesterols weiß man noch nichts. In Anbetracht der relativ hohen Dosen, die für die Flagellaten notwendig sind, erscheint die Zugehörigkeit dieser Substanzen zur Gruppe der echten Wachstumsfaktoren etwas zweifelhaft.

XVIII. Die Hormone der Auxingruppe als Wachstumsfaktoren für Mikroorganismen.

Die Mikroorganismen bilden Faktoren der Gruppe A, die auf die *Avena*-Koleoptile einwirken und also zur Auxingruppe gehören [NIELSEN (1), BOYSEN-JENSEN (1, 2)]. Man könnte somit annehmen, daß diese Substanzen auch für Mikroorganismen eine Bedeutung haben, doch bestehen darüber nur spärliche Angaben. Heteroauxin (β -Indolylessigsäure) wurde wiederholt für die Züchtung wirkstoffbedürftiger Mikroorganismen angewendet, aber meistens ohne positiven Erfolg.

JAKOBS isolierte von einer höheren Pflanze, die zu Hormonversuchen gedient hatte, ein Bakterium, das er als *B. auxinophilum* beschrieb, und das auf Heteroauxin reagierte (TINCKER und JACOBS).

Die Frage, ob es sich dabei um eine hormonale Wirkung handelt, oder ob das Hormon für das Bakterium als Nährstoff dient, bleibt aber noch offen.

Eine größere Bedeutung kommt den Versuchen von I. KERL über Regenerationserscheinungen bei *Pyronema confluens* zu. Diese Autorin zeigte, daß Biotin und Vitamin B₁ in entsprechenden Dosen fördernd auf das Myzelwachstum und auf die Anlage der Apothezien wirken. Auch Auxin allein ist wirksam, aber nicht in dem Maße wie Heteroauxin, das besonders die Bildung von Apothezien anregt (mit 200 AE: + 4037%). Die Wirkung auf die Fruchtkörperbildung ist nicht einfach die Folgeerscheinung einer Förderung des Myzelwachstums, sondern es handelt sich um zwei verschiedene Vorgänge. Nach der Wirkung auf die Fruchtkörperbildung haben wir es hier mit einer morphogenetischen Beeinflussung zu tun, die ungefähr der formativen Wirkung des Hormons auf die höhere Pflanze entspricht.

In diesem Zusammenhang muß auch an die Zygotenbildung bei den Mucorineen erinnert werden. Nach BURGEFF (1) soll sie durch spezifische Sexualstoffe ausgelöst werden. Das Aneurin wirkt sehr wahrscheinlich nicht direkt auf die Zygotenbildung, sondern auf das Myzelwachstum. Man könnte annehmen, daß dadurch die Bildung der Sexualstoffe angeregt wird.

XIX. Tierische Hormone als Wachstumsfaktoren bei Mikroorganismen. Das Folliculin.

Die zahlreichen Versuche mit Organextrakten oder ungenügend gereinigten Konzentraten haben in diesem Zusammenhange für unsere Betrachtungsweise nur geringen Wert.

Für das Folliculin, das mehrfach angewendet wurde, glaubte man, eine fördernde Wirkung auf Hefe feststellen zu können.

WEBER (1, 2) untersuchte folgende Hefearten: *Torula monosa* KLUYVER, Bäckerhefe, *Hansenula anomala* (HANSEN) SYD., *H. saturnus* (KLÖCKER) SYD., *Mycoderma Borgetti* KUFF., *Torulopsis rotundata* RED., *Rhodotorula Suganii* OKUNUKI, *R. glutinis* var. *Satoi* (CIEFF. et RED.) LODD., *R. flava* (SAITO) LODD., *R. longissima* LODD.

Eine Zugabe von Hormon wirkte sich nur bei *Rhodotorula Suganii* und *R. glutinis* var. *Satoi* in einer Erhöhung des Trockengewichtes aus. Der Grad der Stimulation nimmt in folgender Reihenfolge ab: Insulin (unreines Präparat), Follikelhormon C₁₈H₂₂O₂, Benzoat des Dihydrofolliculins C₂₅H₂₉O₃, Testosteron C₁₉H₂₈O₂, Androsteron C₁₉H₃₀O₂, Thyroxin C₁₅H₁₁O₄I₄, Adrenalin C₉H₁₃O₂N, Heteroauxin C₁₀H₉O₂N. Die stimulierende Wirkung der Hormone ist umgekehrt proportional zur Menge der geimpften Zellen. Die Art der Wirkung ist noch unbekannt, möglicherweise beruht sie darauf, daß das für die Entwicklung günstige Redoxpotential unter dem Einfluß des Hormons schneller zustande kommt.

LUND, der die Wirkung des reinen Folliculins auf *Saccharomyces cerevisiae* und *Aspergillus niger* untersuchte, konnte keine Förderung nachweisen. Ebenso wird nach ORTH die Zygotenbildung bei *Absidia coerulea* nicht beeinflusst. Diese Feststellung stimmt mit unseren Beobachtungen an *Phycomyces* überein.

Substanzen dieser Art, deren Wirkung noch weiterer Untersuchungen bedarf, können vorläufig als Stimulantia bezeichnet werden.

XX. Allgemeine Übersicht über die chemisch bekannten Wirkstoffe vitaminischer Natur.

Aus dieser Arbeit ergibt sich, daß wir gegenwärtig mit etwa 14 chemisch bekannten Wirkstoffen vitaminischer Natur rechnen müssen, die aber nicht alle als echte Wachstumsfaktoren zu bezeichnen sind.

Die Tabelle 31 faßt die Wirkung dieser Stoffe auf einige ausgewählte Mikroorganismen zusammen.

Tabelle 31. Zusammenfassende Darstellung der Bedeutung chemisch bekannter Wirkstoffe vitaminischer Natur auf einige Mikroorganismen.

	Pyrimidin	Thiazol	Aneurin	Bios I (Inositol)	Bios II b (Biotin)	Bios II a (β -Alanin)	Lactoflavin	Nicotinsäure	Cozymase	Adernin (Vitamin B ₆)	Hämatin	Pimelinsäure	Cholesterol	Ascorbinsäure
<i>Rhodotorula rubra</i> . . .	+													
<i>Mucor Ramannianus</i> . .		+												
<i>Phycomyces blakeslee-</i> <i>anus</i>	+	+												
<i>Phytophthora cinnamomi</i>			+											
<i>Nematospora gossypii</i> . .			(+)	+	+									
<i>Valsa pini</i>			+	(+)	(+)									
<i>Melanconium betulinum</i> .			+	+	+									
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>			+	+	+	+							+	
Milchsäurebakterien . . .							+			+				
<i>Staphylococcus aureus</i> . .	+	+			+			+						
<i>Hemophilus canis</i>											+			
<i>Hemophilus parainfluen-</i> <i>zae</i>									+					
<i>Hemophilus influenzae</i> . .									+		+			
<i>Strigomonas fasciculata</i> . .											+			+
<i>Trichomonas foetus</i> . . .													+	+
<i>Corynebacterium diphthe-</i> <i>riae</i>						+		(+)				(+)		

(+) = Cowirkstoff. Die Wirkung weiterer, noch nicht definierter Faktoren bleibt vorbehalten.

A. Die Wachstumsfaktoren als Coenzyme.

Von den hier untersuchten Wachstumsfaktoren kennen wir die Funktion des Aneurins (bzw. Pyrimidin und Thiazol), des Hämatins, des Faktors V und des Lactoflavins.

Das Aneurin wirkt als Codehydrase und Cocarboxylase, das Hämatin nimmt an der Bildung des Cytochroms teil, und der Faktor V ist nichts anderes als die Codehydrase I und II.

Dagegen ist die Bedeutung der Nicotinsäure für die Mikroorganismen noch nicht experimentell sichergestellt. Wahrscheinlich wirkt sie ebenfalls als Bestandteil der Cozymase. Dasselbe gilt für das Lactoflavin, das wohl als Wirkungsgruppe des gelben Ferments von WARBURG und CHRISTIAN funktioniert.

Über die Wirkungsweise der Pimelinsäure und des Cholesterols wissen wir noch nichts.

In den Fällen, wo die Funktion bekannt ist, konnten wir uns überzeugen, daß der Wachstumsfaktor nichts anderes ist als ein Coferment oder ein Bestandteil eines solchen.

Der chemisch rein aufgenommene Wachstumsfaktor wird folglich nur dann wirksam, wenn er an die spezifischen Proteine gebunden ist.

Die Codehydrasen (Hämatin, Aneurin und seine Komponenten) sind allgemein verbreitete Bestandteile der lebenden Zelle. Fehlt eine oder mehrere dieser Substanzen, so wird jede Entwicklung unmöglich, da ein Glied in der Kette der enzymatischen Vorgänge ausfällt.

B. Wachstumsfaktoren und Virus.

Nach den letzten wichtigen Entdeckungen auf dem Gebiete der kristallisierbaren Virusarten [STANLEY] könnte man versuchen, gewisse Analogien zwischen diesen Stoffen und den Wachstumsfaktoren zu postulieren. Wir haben in beiden Fällen eine organische Substanz, die in sehr geringen Mengen wirkt, und die sich, einmal in den Organismus eingeführt, in diesem zu vermehren scheint. Die Analogie ist indessen nur eine scheinbare. Wenn die vom Organismus aufgenommenen Wachstumsfaktoren sich wirklich durch eine Art Autokatalyse vermehren könnten, so wäre die quantitative Wirkung, die eine ihrer Haupteigenschaften darstellt, unverständlich. Wir müssen deshalb annehmen, daß im Inneren des Organismus scheinbar keine Vermehrung der wirksamen Substanz (gemessen an einer Wachstumsförderung) stattfindet.

Beobachtungen an *Phycomyces* (s. S. 30 ff.) schienen allerdings zu zeigen, daß ein maximales Erntegewicht auch erzielt werden kann, wenn ein Myzel nach einigen Tagen aus einer aneurinhaltigen Nährlösung in eine vitaminfreie übertragen wird. Die nächstliegende Erklärung für dieses Verhalten besteht aber in der Annahme, daß in den ersten Entwicklungsstadien des Pilzes eine Anreicherung des Wachstumsfaktors in Thallus erfolgt (Absorption oder Adsorption), die eine genügende Reserve für

ein maximales Wachstum darstellt. Diese Anreicherung wurde auch für andere Wachstumsfaktoren nachgewiesen.

Vorläufige Untersuchungen an *Phycomyces* schienen zu zeigen, daß das Myzel nicht mehr Aneurin enthält, als der Nährlösung zugesetzt worden war.

Eine Schwierigkeit liegt aber darin, daß durch die Gegenwart des Aneurins andere Wachstumsfaktoren gebildet werden können.

Dagegen scheint eine Beobachtung von FRIES an *Nematospora gossypii* zugunsten einer Analogie zwischen Wachstumsfaktoren und Virus zu sprechen (s. S. 117). Nach ihm wirkt Biotin nicht quantitativ wie Inositol. Eine sehr geringe Dosis scheint schon ein unbegrenztes Wachstum auslösen zu können. Diese Verhältnisse sind indessen noch zu wenig untersucht, um zur Theorie ausgebaut werden zu können. Da Biotin noch in überaus starken Verdünnungen aktiv ist, wäre es möglich, daß hier durch die Unzulänglichkeit unserer Methoden eine qualitative Wirkung vorgetäuscht werden könnte. Darüber wären weitere eingehende Untersuchungen notwendig.

XXI. Rückblick. Eigenschaften und Definition der Wachstumsfaktoren.

Die vorstehenden Ausführungen ergaben eine mehrfache Bestätigung unserer Auffassung der Eigenschaften und des Begriffes der Wachstumsfaktoren (vgl. S. 16). Es ist wohl am Platze, hier noch einmal auf unsere Definition zurückzukommen und sie an Hand der erwähnten Tatsachen zu vervollständigen.

Unsere Auffassung der Wachstumsfaktoren steht in scharfem Gegensatz zur Definition von LWOFF, der als einziges Kriterium den Verlust des Synthesevermögens, verbunden mit dem Merkmal der Unersetzbarkeit, annimmt. Ein Syntheseverlust kann sich ebenso gut auf Nährstoffe wie auf Wachstumsfaktoren beziehen, dabei sollen die ersteren ersetzbar sein, die Wachstumsfaktoren aber nicht. Nach LWOFF ist ein Wachstumsfaktor eine Substanz, die unter allen Bedingungen, in jeder Nährlösung unumgänglich nötig ist. Um die Wirkung von Reserven, die in den Zellen enthalten sein können, auszuschalten, müssen Hungerkulturen angelegt werden, in denen keine Entwicklung mehr stattfinden darf. Die Konzentration, in der eine Substanz aktiv ist, hat für LWOFF keine Bedeutung.

Wir müssen dazu folgendes bemerken:

1. Die Annahme eines Verlustes des Synthesevermögens muß experimentell bewiesen werden. Dieser Nachweis ist noch lange nicht für alle Substanzen, die zu Recht oder Unrecht als Wachstumsfaktoren bezeichnet werden, erbracht. Die Feststellung, daß ein Wirkstoff notwendig ist, beweist noch nicht, daß seine Unentbehrlichkeit oder seine fördernde Wirkung durch den Verlust des Synthesevermögens bedingt ist.

2. Das Merkmal der Uersetzbarkeit ist für die Unterscheidung zwischen Nährstoffen und Wachstumsfaktoren nicht anwendbar. Man kennt für die gewöhnlichen Nährstoffe alle Abstufungen der Spezifität. Mit Recht kann man von Nährstoffen mit spezifischer Wirkung sprechen. Andererseits gibt es aber Wachstumsfaktoren, die sich gegenseitig ersetzen können (vgl. Bios, S. 107).

Für *Staphylococcus aureus* haben KÖGL und v. WAGTENDONCK beobachtet, daß derselbe Wachstumseffekt (Zuwachs etwa 670%!) erzielt werden kann mit 5γ Aneurin + 5γ Nicotinsäure oder mit $0,005 \gamma$ Biotin + $0,05 \gamma$ Aneurin + $0,05 \gamma$ Nicotinsäure. Biotin allein übt nur eine sehr schwache Wirkung aus. An einer teilweisen Ersetzbarkeit ist hier nicht zu zweifeln, obschon ihr Mechanismus vorläufig noch nicht erklärt werden kann. Man kann also gegenwärtig das Merkmal der Ersetzbarkeit nicht verwenden, um Wachstumsfaktoren und Nährstoffe einander gegenüberzustellen.

3. Das Argument von LWOFF, daß für die Mikroorganismen alle Stoffe in geringen Dosen wirken, ist nicht zutreffend. Bezieht man die Wirkung auf das Gewicht der Mikroorganismen oder der Kulturen, so muß man zwischen Substanzen, die in relativ hohen Dosen wirken (Nährstoffe), und solchen, bei denen schon äußerst geringe Mengen aktiv sind, unterscheiden.

4. Die Tatsache, daß es Kulturbedingungen geben kann, unter denen ein als auxo-heterotroph betrachteter Organismus seine Wachstumsfaktoren selber zu synthetisieren vermag, beeinträchtigt in keiner Weise die Bedeutung und die Notwendigkeit dieser Faktoren unter anderen Bedingungen. Für alle auxo-heterotrophen Organismen, auch für diejenigen, die ganz besonders stark auf einen Wachstumsfaktor angewiesen scheinen, mag es Kulturbedingungen geben, unter welchen ein solcher nicht notwendig ist. Umgekehrt gibt es vielleicht für auxo-autotrophe Organismen ebenfalls Bedingungen, unter denen sie die Synthese ihrer Wachstumsfaktoren nicht mehr ausführen können. Niemand kann behaupten, daß er für ein gegebenes Objekt alle möglichen Kulturbedingungen und alle assimilierbaren Stoffe mit allen ihren möglichen Kombinationen kenne. Eine einfache Veränderung der Kulturbedingungen kann aus einem auxo-autotrophen Organismus einen auxo-heterotrophen machen (vgl. *Pythium Butleri* und *Rhodotorula sanniei*, s. S. 100).

5. Die Tatsache, daß Organismen, die auf Wachstumsfaktoren angewiesen sind, in Kontrollkulturen auch ohne diese Substanzen ein schwaches Wachstum zeigen, vermindert die Bedeutung dieser Faktoren für eine optimale Entwicklung nicht. Wir wissen, daß das Synthesevermögen in vielen Fällen nur teilweise verloren gegangen ist. Es handelt sich hier lediglich um quantitative Abstufungen.

6. Aus der Tatsache, daß — wenigstens in den genauer untersuchten Fällen — die Wachstumsfaktoren als Coenzyme zu betrachten sind, folgt ohne weiteres, daß sie in sehr geringen Mengen wirken müssen.

Deshalb müssen wir die Definition von LWOFF ablehnen. Wir sehen nicht ein, daß Nitrate und Sulfate den Charakter von Wachstumsfaktoren haben sollten, Bios dagegen nicht.

Wir benützen die Coenzymwirkung der Wachstumsfaktoren als weiteres Kriterium für unsere Definition. Dies entspricht ungefähr der aus der Vitaminologie übernommenen Auffassung, daß die Wachstumsfaktoren eine „katalytische“ Wirkung ausüben.

Nach unserer Auffassung kommen für die Entwicklung der Mikroorganismen folgende Faktoren in Betracht:

1. Gewöhnliche Nährstoffe mit plastischer Wirkung,
2. Nährstoffe mit spezifischer Wirkung,
3. echte Wachstumsfaktoren,
4. stimulierende Faktoren,

Zur Unterscheidung dieser Faktoren benützen wir folgende Kriterien:

- a) Organische Natur des Faktors,
- b) Notwendigkeit durch den Verlust des Synthesevermögens bedingt,
- c) Wirkung in sehr geringen Mengen,
- d) Wirkung als Coenzym.

Tabelle 32. Die Kennzeichen eines Wachstumsfaktors.

	Synthese- verlust	Organische Natur	Wirkung in geringer Menge	Katalytische Wirkung (Coenzym)
Nährstoffe	(+) ¹	+		
Nährstoffe mit spezifischer Wirkung	+	+	+	
<i>Wachstumsfaktoren</i>	+	+	+	+
Stimulantia		+	+	(+)?
Pseudowachstumsfaktoren (minerali- scher Natur).			+	(+)

¹ Für heterotrophe Organismen.

Ein Wachstumsfaktor ist eine in sehr geringen Mengen wirkende organische Substanz mit quantitativer Wirkung, deren Synthese vom Organismus nur noch teilweise oder überhaupt nicht mehr ausgeführt werden kann.

Als Stimulans bezeichnen wir jede Substanz, die eine fördernde Wirkung ausübt, ohne daß sie jedoch ganz unentbehrlich wäre und für die nicht nachgewiesen werden kann, daß ihre Notwendigkeit durch einen Syntheseverlust bedingt ist. Dieselbe Substanz kann für einen Organismus als Wachstumsfaktor, für einen anderen als Stimulans in Betracht kommen.

Je nach der Art, wie sich die einzelnen Organismen gegenüber den Wachstumsfaktoren verhalten, könnte man verschiedene Kategorien aufstellen.

Ein Hauptwachstumsfaktor ist während der ganzen Entwicklung notwendig. Das einmal verlorene Synthesevermögen kann nicht wieder

erworben werden. Ein auslösender Wachstumsfaktor (im Sinne von LWOFF) ist nur für den Beginn der Entwicklung notwendig, der Organismus erlangt später wieder die Fähigkeit, diesen in genügender Menge zu synthetisieren.

Ein Cofaktor ist für ein mittelmäßiges Wachstum nicht unumgänglich notwendig, er ergänzt die Wirkung anderer Faktoren. Die gleiche Substanz kann für einen Organismus Cofaktor, für einen anderen aber Hauptfaktor sein. So ist Aneurin ein Cofaktor für *Nematospora gossypii*, aber Hauptfaktor für *Phycomyces*.

Als echte Wachstumsfaktoren können wir nach dem gegenwärtigen Stand der Forschung das Aneurin (Pyrimidin und Thiazol), das Hämatin, die Cozymase, das Lactoflavin und die Nicotinsäure bezeichnen. Wahrscheinlich gehört auch Biotin dazu; doch ist seine Wirkungsweise noch nicht abgeklärt.

Mesoinositol (Hefe), Brenztraubensäure und Glykolsäure (*Aspergillus*) haben die Bedeutung von Nährstoffen mit spezifischer Wirkung. Dasselbe gilt auch für das Cholesterol.

Für die Einordnung der Aminosäuren ergeben sich gewisse Schwierigkeiten. Werden die von der Hefe oder von *Staphylococcus* benötigten Aminosäuren für den Aufbau der Proteine verwendet, so müssen sie ohne weiteres als Nährstoffe mit spezifischer Wirkung bezeichnet werden. Wollte man sie als Wachstumsfaktoren betrachten, so müßten auch die Polypeptide, aus denen die betreffenden Aminosäuren hervorgehen, zu dieser Gruppe gezählt werden.

Die auf Hefe wirksamen Aminosäuren gehören nicht alle in die gleiche Kategorie. Einige von ihnen können assimiliert und wahrscheinlich als Stickstoffquelle verwendet werden, so z. B. Asparagin, Asparaginsäure, Arginin und Glutaminsäure [NIELSEN und HARTELIUS (7)]. Das Asparagin, das nur in relativ hohen Konzentrationen wirksam ist und kein ausgeprägtes Optimum der Wirkung zeigt, hat sicher die Bedeutung eines Nährstoffes, was auch der Ansicht von NIELSEN und HARTELIUS entspricht.

Glutaminsäure und Arginin sind assimilierbar [NIELSEN und HARTELIUS (7)], wenn Ammoniumsulfat nicht im Überschuß vorhanden ist. Beide Substanzen wirken in Konzentrationen, die bedeutend geringer sind als die von Nährstoffen. Für die Annahme von Wachstumsfaktoren erscheinen jedoch die hier wirkenden Verdünnungen von 1:10000 und 1:20000 noch nicht ausreichend.

Noch weniger klar ist die Bedeutung des Lysins und des β -Alanins. Lysin kann nicht als Stickstoffquelle verwertet werden, es wirkt in einer Verdünnung von 1:40000 noch fördernd. Nach NIELSEN und HARTELIUS (10) wird wahrscheinlich nur eine sehr geringe Menge absorbiert. Ähnlich verhält es sich mit dem β -Alanin, das ebenfalls nicht als Stickstoffquelle in Betracht kommt. Diese Aminosäure wurde

bis jetzt noch nie in pflanzlichen Zellen gefunden und wirkt wie l-Leucin in geringen Dosen.

Solange man die Wirkungsweise dieser Aminosäuren nicht kennt und solange der Nachweis nicht erbracht ist, daß ihre Notwendigkeit auf einem Verlust des Synthesevermögens beruht, ist es unmöglich, ihnen im System der Wirkstoffe einen bestimmten Platz zuzuweisen. Nach unserer Definition betrachten wir das Arginin, die Glutaminsäure, das Lysin und das β -Alanin als stimulierende Faktoren.

Die Aminosäuren stellen also einen Grenzfall dar, der weiterer Untersuchung bedarf. Bevor ihre eigentliche Bedeutung sichergestellt ist, erscheint es verfrüht, sie als Argumente für oder gegen die von uns vorgeschlagene Einteilung zu verwenden.

XXII. Symbiose, Parasitismus und Wachstumsfaktoren.

A. Einseitige oder gegenseitige Stimulation — Satellitismus.

Die Fortschritte in der Erforschung der Wachstumsfaktoren haben sich nicht zuletzt auch auf das Problem der Symbiose ausgewirkt. Es ist seit langem bekannt, daß zwei nebeneinander wachsende Mikroorganismen eine einseitige oder gegenseitige Stimulation bewirken können [Satellitismus von DAVIS (2, 3) für hämophile Bakterien]. Wird *Phycomyces* in Petrischalen in synthetischer Nährlösung kultiviert, so entsteht nur ein schwaches Oberflächenmyzel. Erfolgt aber eine Infektion der Nährlösung durch *Penicillium glaucum*, so bildet *Phycomyces* an dieser Stelle und in der unmittelbaren Nachbarschaft ein kräftiges Luftmyzel aus. Es kann nicht bezweifelt werden, daß diese einseitige Förderung sich auf stofflichem Wege erklären läßt. Das auxo-autotrophe *Penicillium* synthetisiert Wachstumsfaktoren, die auch dem auxo-heterotrophen *Phycomyces* zugute kommen. Eine Hefe- oder Bakterieninfektion wirkt in gleicher Weise. Dahin gehört vielleicht auch die vorbereitende Wirkung eines Organismus in bezug auf einen anderen, der nachher auf demselben Substrat gezüchtet wird. *Streptothrix corallinus* wächst nicht auf einer synthetischen Nährlösung (s. S. 23, 84). Eine Entwicklung ist aber möglich, wenn der Nährboden vorher mit *Meningococcus* beimpft worden ist [ORR-EWING und READER (2)].

B. Darmsymbionten.

Solche Fälle einseitiger Förderung führen schließlich zum Problem der Symbiose. Es wurde die Hypothese aufgestellt, daß die Bedeutung der Darmsymbionten ganz oder zum Teil auf die von ihnen gebildeten Wirkstoffe (Vitamine) zurückzuführen sein könnte. Bei diesen

Symbionten handelt es sich in erster Linie um saprophytische Bakterien und Pilze. Wir wissen, daß solche Organismen imstande sind, Vitamine zu synthetisieren. Einen Beweis für die Bedeutung dieser Substanzen erblicken wir in den Untersuchungen von KOCH (1, 2) über die Symbionten der *Sitodrepa*-Larven. Hier handelt es sich um symbiotische Hefen. Die symbiontenfreien Larven entwickeln sich bei aseptischer Kultur ohne Hefe nicht, doch kann diese durch Trockenhefe (Zenovitan), Hefeextrakte und durch frische oder getrocknete Weizenkeime ersetzt werden. Es handelt sich also hier nicht um spezifische Substanzen der Hefen (*Saccharomycetaceen*), sondern um Stoffe, die im Pflanzenreich verbreitet sind. Der wirksame Faktor kann nicht durch das Vitamin B₁ (in Form eines Fullererdeadsorbates) ersetzt werden. Nach KOCH wirken verschiedene thermostabile Faktoren, die vermutlich in die Gruppe der B-Vitamine gehören.

Man weiß ferner, daß Hefeextrakt für die Kultur von *Drosophila*-Larven unentbehrlich ist (GUYENOT). VAN T'HOGG zeigte, daß eine aseptische Aufzucht von symbiontenfreier *Drosophila melanogaster* bis zur Geschlechtsreife möglich ist, wenn das Nährsubstrat neben anderen Bestandteilen Aneurin, Vitamin B₂, andere Hefefaktoren und Sterole enthält. Es können aber vorläufig noch lange nicht alle Fälle auf eine Vitaminwirkung zurückgeführt werden. Man weiß, daß die *Sarcophaga*-Symbionten nicht als Vitaminlieferanten funktionieren, sondern daß sie durch ihre enzymatische Tätigkeit dem „Wirt“ unentbehrliche Dienste leisten (DI MARIA). BODE zeigte, daß die aseptische Aufzucht der Larven von *Periplaneta americana* auch auf einem vitaminreichen Substrat nicht gelingt. Wird dieses aber durch Schimmelpilze und Hefen infiziert, so ist eine Entwicklung bis zum Imagostadium möglich: „Die symbiontischen Bakterien können also den Wirt nicht von seinem Substrat unabhängig machen“ (BODE).

C. Orchideensymbionten.

Einen weiteren Beitrag zu dieser Frage brachten die Untersuchungen von BURGEFF (2, 3) über die Symbiose der Orchideen. Die symbiontischen Pilze der Orchideen, die unter bestimmten Bedingungen notwendig sind, können bei Kulturen in synthetischen Nährlösungen durch Pilzextrakte oder noch besser durch ein Hefeextrakt ersetzt werden [BURGEFF (2)]. Der aktive Faktor hat folgende Eigenschaften: Löslich in Wasser und konzentriertem Alkohol, unlöslich in Äther, hitzebeständig, resistent gegen Oxydation durch H₂O₂, widerstandsfähig gegen UV-Strahlen, adsorbierbar an Tierkohle, nicht aber an Papierfilter und Bolus. Das konzentrierte Hefeextrakt kann nicht durch das Vitamin B₁ ersetzt werden. Ebenso sind die Vitamine B₂, A und C wie auch das Follikelhormon nicht wirksam. BURGEFF konnte sein Hefeextrakt so weit reinigen, daß ein Zusatz von 300 γ pro Kubikzentimeter noch wirkte. Nach seiner Ansicht handelt es sich bei der Orchideensymbiose um eine

temporäre Avitaminose [BURGEFF (2)], die durch Zufuhr der betreffenden Substanzen aus dem Symbionten behoben werden kann.

Der Wachstumsfaktor der Orchideen, der in verschiedenen Samen verbreitet ist, wurde durch SCHAFFSTEIN eingehender untersucht. Es gelang ihm, die Substanz durch Adsorption an Tierkohle und Elution mit verdünntem Alkohol so weit anzureichern, daß noch eine Verdünnung von 1 : 1 000 000 des Extraktes auf Samen von *Phalaenopsis* wirksam war. Das *Vandeen*-Vitamin ist nicht mit Biotin identisch. Nach den Kurven von SCHAFFSTEIN wirkt der aus Samen von *Vicia faba* gewonnene aktive Faktor quantitativ (Abb. 53). Es handelt sich auf alle Fälle um eine Substanz, die im Pflanzenreich weit verbreitet ist. Sie wurde in den Samen zahlreicher Pflanzen nachgewiesen und ist auch in ergrünten *Phalaenopsis*-Pflanzen vorhanden. Dies beweist, daß eine Zufuhr von außen nur während der ersten saprophytischen Stadien der Entwicklung notwendig ist.

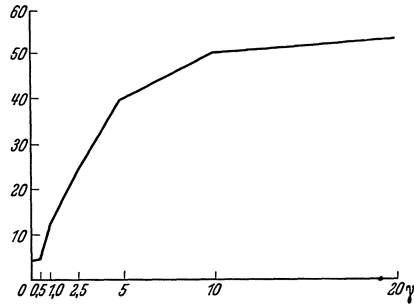


Abb. 53. Erhöhung der Entwicklungsrate von *Phalaenopsis amabilis* × *Schilleriana* durch steigende Zusätze eines gereinigten *Vicia*-Samenextraktes zum Nährboden. (Nach SCHAFFSTEIN.)

D. Künstliche Symbiose.

Die Fälle von künstlicher Symbiose zeigen die Bedeutung der Wachstumsfaktoren für dieses Problem besonders deutlich.

Nematospora gossypii verlangt Biotin, ist aber imstande, eine gewisse Menge von Aneurin zu synthetisieren. *Polyporus adustus* dagegen synthetisiert Biotin, ist aber auf Zugabe von Aneurin angewiesen. In Mischkulturen lassen sich die beiden Pilze in synthetischen Nährlösungen ohne Zugabe von Wachstumsfaktoren kultivieren (KÖGL und FRIES). *Polyporus* liefert für *Nematospora* Biotin und erhält von dieser das nötige Aneurin.

Noch überzeugender wirkt das Beispiel von *Rhodotorula rubra* und *Mucor Ramannianus* [MÜLLER und SCHOPFER, SCHOPFER (25)]. Wie wir gezeigt haben, verlangt *Rhodotorula* nur Pyrimidin (synthetisiert also Thiazol), während *Mucor Ramannianus* nur Thiazol benötigt (er synthetisiert Pyrimidin). Werden die beiden Pilze zusammen, ohne Zugabe eines Wachstumsfaktors, in synthetischer Nährlösung gezüchtet, so wachsen sie ausgezeichnet. Wir müssen annehmen, daß jeder Partner dem anderen den fehlenden Bestandteil des Aneurins liefert (s. S. 90).

Auf diese Weise erhalten beide Pilze die zum Aufbau des Aneurinmoleküls notwendigen Komponenten. Allerdings gelingt der Versuch nur, wenn für die Impfung gewisse Vorbedingungen erfüllt sind, da sonst leicht ein Partner über den anderen dominiert.

Dieser Fall scheint um so merkwürdiger, als das Produkt der „Symbiose“ ganz anders aussieht als die beiden Partner. Die Durchdringung der einzelligen *Rhodotorula* durch die Myzelfäden von *Mucor Ramannianus* ergibt ein faltiges Gebilde von fast flechtenartigem Aussehen! Dieses läßt sich weder mit dem glatten Rasen des *Mucor* noch mit den klebrigen Kolonien der roten Hefe vergleichen.

Es ist klar, daß in der Natur diese beiden Organismen kaum je zusammentreffen, wenigstens nicht unter Bedingungen, die eine Symbiose ermöglichen würden. Es handelt sich um eine rein künstliche Verbindung, um eine Art Laboratoriumsmodell der Symbiose, die allerdings um so interessanter ist, als die beiden wesentlichen Substanzen Bestandteile desselben Moleküls darstellen. Die Synthese der einen Komponente des Aneurins durch die beiden Organismen wird durch diesen Versuch augenfällig erwiesen.

Einen ähnlichen Fall beobachtete RIVERS bei den hämophilen Organismen. *Hemophilus canis* verlangt den Faktor X (Hämatin), synthetisiert aber den Faktor V (Cozymase) selbst. Umgekehrt ist *Hemophilus parainfluenzae* auf Zugabe des Faktors V angewiesen, vermag jedoch den Faktor X selbst zu synthetisieren. Beide Organismen zusammen entwickeln sich in Peptonwasser ohne Zugabe von Wachstumsfaktoren ausgezeichnet.

E. Parasitismus.

Endlich können wir uns fragen, ob bestimmte Beziehungen zwischen dem Problem der Wachstumsfaktoren und dem Parasitismus bestehen. Die aktiven Substanzen haben eine universelle Verbreitung und Wirkung. Sie können deshalb allein die parasitische Spezifität nicht erklären. Da aber alle hier untersuchten Organismen entweder Saprophyten oder Parasiten sind, darf wohl der Verlust des Synthesevermögens für Wachstumsfaktoren als Teilerscheinung einer allgemeinen Rückbildung betrachtet werden, die von der Autotrophie s. l. zum Saprophytismus oder Parasitismus führt.

Bestimmte Entwicklungsreihen, wie z. B. die säurefesten Bazillen, eignen sich besonders gut, um den fortschreitenden Parasitismus zu zeigen [KNIGHT (2), S. 153]. Die Reihe beginnt mit dem saprophytischen *Mycobacterium phlei*, das mit einfachen Kohlenstoffquellen und Ammoniak kultivierbar ist. Sie setzt sich fort mit verschiedenen Wirbeltierparasiten (Kaltblüter, Vögel, Säugetiere) und endet schließlich mit dem KOCHSchen Bazillus (*M. tuberculosis hominis*), der seine Wachstumsfaktoren noch zu synthetisieren vermag, während der JOHNESche Bazillus (*M. tuberculosis* var. *bovis*) diese Synthese nicht mehr ausführen kann.

An der Entstehung des Parasitismus sind zahlreiche Faktoren beteiligt. Wollte man nur einen Faktor für diese Erscheinung verantwortlich machen, so würde man sich bald in Widersprüche verwickeln. Unter den *Mucorineen*, die auf Aneurin angewiesen sind, finden wir Saprophyten

(*Pilaira*, *Phycomyces*) und daneben auch Arten, die in der Natur gewöhnlich parasitisch leben (*Chaetocladium*, *Dicranophora*). Andere Arten, die nach ihren morphologischen Eigenschaften und nach ihrer Lebensweise unbedingt als Parasiten bezeichnet werden müssen, wachsen in synthetischen Nährlösungen, ohne Wachstumsfaktoren sehr gut (*Piptocephalis Fresenianus*) [SCHOPFER (11)].

Beim heutigen Stand des Problems ist es noch unmöglich, einen tieferen Einblick in die Beziehungen zwischen Wachstumsfaktoren und Parasitismus zu bekommen.

XXIII. Kreislauf der Wachstumsfaktoren.

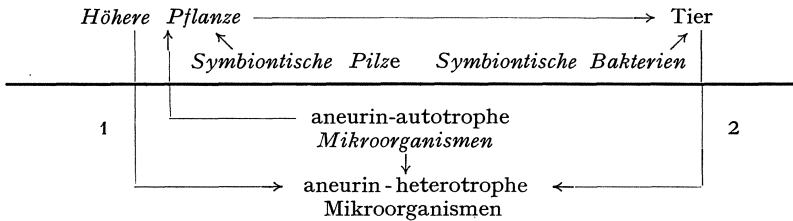
Für die Vitamine im allgemeinen läßt sich eine Art Kreislauf in der Natur feststellen.

Berücksichtigt man nur ein Vitamin, z. B. das Vitamin A und das Carotin, so erscheint der Kreislauf sehr deutlich, wenn man an die Bildung des Carotins in einzelligen Algen und an seinen Weitertransport durch das Zooplankton bis zu den Fischen denkt. Man könnte diese Überlegungen weiter ausführen und auf die Wachstumsfaktoren im allgemeinen übertragen [s. BOAS (2), KÖGL und HAAGEN-SMIT, SCHOPFER (21)].

Nehmen wir einen besonderen Fall an: *Mucor Ramannianus*, eine Mucorinee des Waldbodens, benötigt als Wachstumsfaktor Aneurin oder Thiazol allein (W. F. MÜLLER). Konzentrierte Bodenextrakte, einer synthetischen Nährlösung beigefügt, bedingen eine deutliche Förderung des Wachstums. Dieselbe Wirkung haben Abkochungen frischer oder halb zersetzter Blätter. Ebenso wird die Entwicklung durch die nicht spezifischen Ausscheidungen der Wurzeln und Samen gefördert. Im Boden kommen alle Substanzen vor, die durch Zersetzung organischer Materie oder durch die Tätigkeit der Mikroorganismen (Bakterien, Schimmelpilze) entstanden sind. Die auxo-autotrophen Organismen sondern sicher Wachstumsfaktoren in den Boden ab. Die fördernde Wirkung der Bodenextrakte [LWOFF und LEDERER, PRINGSHEIM (2)] muß bestimmt auf diese Substanzen zurückgeführt werden. Andererseits kommen auch durch den Dünger (BONNER und GREENE) Wachstumsfaktoren in den Boden. Diese Autoren stellten für *Azotobacter* einen sehr hohen Aneurin-gehalt fest. Man weiß, daß dieses Vitamin auch für die höhere Pflanze notwendig ist. Seine positive Wirkung läßt sich in Kulturen von Embryonen ohne Kotyledonen am besten beobachten. Das Aneurin scheint für die Wurzelbildung, die unter der Einwirkung des Heteroauxins eingeleitet wird, notwendig oder nützlich zu sein. Gewisse Pflanzen, wie z. B. *Camellia*, sind nach BONNER und GREENE nicht imstande, in ihren Blättern eine genügende Menge dieses Vitamins zu bilden und sind folglich auf einen Zuschuß von außen angewiesen.

Wir können in bezug auf das Aneurin folgende Gruppen von Organismen unterscheiden:

1. Die höhere autotrophe Pflanze, die Aneurin synthetisiert.
2. Das höhere Tier, das sein Aneurin von der Pflanze bezieht.
3. Die auxo-heterotrophen Mikroorganismen des Bodens (Bakterien, Pilze, auxo-heterotrophe Protozoen), die ihr Aneurin aus den tierischen und pflanzlichen Zersetzungsprodukten des Bodens beziehen.
4. Die auxo-autotrophen Mikroorganismen, die eine Anreicherung des Aneurins im Boden bewirken und damit die Entwicklung auxo-heterotropher Mikroorganismen und vielleicht auch der höheren Pflanzen, die auf einen Aneurinzuschuß angewiesen sind, ermöglichen.



Aneurinsynthese: *Schrägdruck*. 1, 2 tierische und pflanzliche Zersetzungsprodukte.

Es läßt sich also für das Aneurin eine Art Kreislauf in der Natur feststellen. Obschon er nicht vollständig geschlossen ist, zeigt er die Beziehungen zwischen den verschiedenen Lebewesen deutlich und ist für den Ablauf der Lebensvorgänge von größter Wichtigkeit.

XXIV. Schlußbetrachtungen.

Die durch die Erforschung der Wachstumsfaktoren bei Mikroorganismen gewonnenen Kenntnisse haben sich sowohl in praktischer als auch in theoretischer Hinsicht überaus fördernd ausgewirkt. Als praktisches Ergebnis möchten wir die Tatsache bezeichnen, daß eine große Zahl von Mikroorganismen, die früher nur auf sehr komplexen Nährböden gezüchtet werden konnten, nun in einfachen synthetischen Nährlösungen kultivierbar ist. Damit ist die Möglichkeit gegeben, ihren Stoffwechsel und ihre Ernährungsphysiologie mit der wünschbaren Genauigkeit zu untersuchen.

Allerdings bleiben heute in dieser Beziehung noch viele Fragen ungelöst. Wir wissen, daß weitere, noch unbekannte Faktoren wirken müssen (hämophile Organismen, verschiedene Bakterien). Doch dürfen wir hoffen, daß wir mit Hilfe der Methoden, die mit soviel Erfolg zur Entdeckung der ersten Wachstumsfaktoren geführt haben, schließlich dazu gelangen werden, für jeden Organismus die gesamte Faktorenkonstellation festzustellen.

Es ist zwar nicht sicher, daß man mit Hilfe von Wachstumsfaktoren allein alle heterotrophen Organismen in synthetischen Nährlösungen zur Entwicklung bringen kann. Ob es schließlich einmal gelingen wird, obligatorische Parasiten, wie z. B. Erysiphaceen und Uredineen, die bis jetzt noch nie auf totem Substrat gezüchtet werden konnten, in synthetischen Nährlösungen zu kultivieren, dürfte auch noch von anderen Bedingungen abhängig sein. Gerade hier wäre die Kultur auf synthetischen Nährböden die Vorbedingung für eine gründliche morphologische und biologische Untersuchung dieser Pilze sowie für eine tiefere Einsicht in der Natur ihrer parasitischen Lebensweise.

Von größter allgemeiner Tragweite sind endlich die theoretischen Ergebnisse der Erforschung der Wachstumsfaktoren. Diese ehemals so mysteriösen Stoffe dürfen heute als Bestandteile von Coenzymen betrachtet werden, und ihre Konstitution ist weitgehend geklärt. Sie greifen in allgemeine Lebensvorgänge ein und erlauben uns, die Mikroorganismen in den Rahmen der allgemeinen Physiologie zu stellen.

Diese Fortschritte wurden vor allem durch die Anwendung des Vitaminbegriffes auf das Problem der Wachstumsfaktoren ermöglicht. Damit wurde auch der Begriff der Vitamine beträchtlich erweitert. Die aus der Tierphysiologie schon bekannten Vitamine (B_1 , B_2 , C) spielen auch im Stoffwechsel der Mikroorganismen eine bedeutende Rolle. Andererseits zeigte es sich, daß Substanzen, wie die Nicotinsäure, deren Bedeutung zuerst für die Mikroorganismen erkannt wurde, auch als Vitamine für das Tier in Betracht kommen.

Endlich sei darauf hingewiesen, daß der Mechanismus der Vitaminwirkung in einigen Fällen zuerst an Mikroorganismen aufgeklärt wurde. Was das Aneurin und sein Bestandteile anbelangt, sehen wir tatsächlich, daß das eigenartige Problem der Pyrimidin-, Thiazol- und Pyrimidin + Thiazol-Organismen zuerst für Mikroorganismen gestellt und gelöst werden mußte, bevor es für die Physiologie der höheren Pflanze und des Tieres die ihm zukommende Bedeutung erlangte.

Es darf ohne Übertreibung behauptet werden, daß durch die Untersuchungen an auxo-heterotrophen Mikroorganismen, die an höheren Tieren gewonnenen Kenntnisse über die Bedeutung und Wirkung der wichtigsten Vitamine wesentlich ergänzt und vertieft worden sind. Ebenso wurde damit der Boden für das Problem der Synthese der Vitamine durch die höhere Pflanze vorbereitet. Damit ist eine Frage, deren Bedeutung lange sehr umstritten war, schließlich zu einem fundamentalen Problem der allgemeinen Physiologie geworden.

Literatur.

- ABDERHALDEN, E.: (1) Untersuchungen über die alkoholische Gärung mittels Hefezellen unter verschiedenen Bedingungen. Einfluß von Adsorbentien auf den Verlauf der Vergärung verschiedener Kohlehydrate. Fermentforsch. 1922, 225.

- ABDERHALDEN, E.: (2) Ein für die B₁-Avitaminose charakteristisches Symptom und eine neue Wirkung von Vitamin B₁ (Aneurin, Thiamin). *Nova Acta Leopoldina*, N. F. **6** (1938/39).
- u. R.: Die Heilung der B₁-Avitaminose bei der Taube durch Zufuhr der Thiazol- und Pyrimidinkomponente des Aneurins. *Pflügers Arch.* **240**, 746 (1938).
- ALLISON, F. E.: The growth of *Bacillus radicola* on artificial media containing various plant extracts. *J. agricult. Res.* **35**, 915 (1927).
- S. R. HOOVER and D. BURK: A respiration coenzyme. *Science (N.Y.)* **78**, 271 (1933).
- and S. R. HOOVER: An accessory factor for legume nodule bacteria. *J. Bacter.* **27**, 561 (1934).
- ALMOSLECHNER, E.: Die Hefe als Indikator für Wuchsstoffe. *Planta (Berl.)* **22**, 515 (1934).
- ANDERSAG, H. u. K. WESTPHAL: Über die Synthese des antineuritischen Vitamins. *Ber. dtsh. chem. Ges.* **70**, 2035 (1937).
- ASTHANA, R. P. and L. E. HAWKER: The influence of certain fungi on the sporulation of *Melanospora destruens* SHEAR and of some other *Ascomycetes*. *Ann. Bot.* **50**, 325 (1936).
- BACHMANN, F. M.: Vitamine requirements of certain yeasts. *J. of biol. Chem.* **39**, 235 (1919).
- BARGER, G., F. BERGEL and A. R. TODD: Crystalline fluorescent dehydrogenation products from vitamin B₁. *Nature (Lond.)* **136**, 259 (1935).
- BERGEL, F. and A. R. TODD: Aneurin, Part IX. A new synthesis of thiochrom. Note on the synthesis of aneurin. *J. chem. Soc. (Lond.)* **1938**, 26.
- BERTRAND, G. et M. JAVILLIER: (1) Influence du manganèse sur le développement de l'*Aspergillus niger*. *C. r. Acad. Sci. Paris* **152**, 225 (1911).
- (2) Influence combinée du zinc et du manganèse sur le développement de l'*Aspergillus niger*. *C. r. Acad. Sci. Paris* **152**, 1337 (1911).
- BJÄLFVE, G. u. RAGNAR NILSSON: Stroh als Nährboden für *Bact. radicola* und andere Mikroorganismen. *Ann. Landw. Hochschule Schwedens* **5**, 71 (1938).
- BLUMER, S.: Untersuchungen über die Biologie von *Ustilago violacea* (PERS.) FÜCK. I. Ernährungs- und Kulturbedingungen. Wirkung des Saponins. *Arch. Mikrobiol.* **8**, 458 (1937).
- BOAS, F.: (1) Dynamische Botanik. München-Berlin: J. F. Lehmann 1937.
- (2) Vergleichende Untersuchungen über Wachstumsanreger in einheimischen Pflanzen. *Ber. dtsh. bot. Ges.* **53**, 495 (1935).
- u. R. BAUER: Über das Wuchsstoffbedürfnis von *Dematium*. *Protoplasma (Berl.)* **27**, 106 (1936).
- BODE, B.: Untersuchungen über die Symbiose von Tieren mit Pilzen und Bakterien. V. *Arch. Mikrobiol.* **4**, 391 (1936).
- BOMSKOV, CHR.: Methodik der Vitaminforschung. Leipzig: Georg Thieme 1935.
- BONNER, J.: Thiamin (Vitamin B₁) and the growth of roots; the relation of chemical structure to physiological activity. *Amer. J. Bot.* **25**, 543 (1938).
- and E. R. BUCHMAN: Syntheses carried out in vivo by isolated pea roots. *Proc. nat. Acad. Sci. U.S.A.* **24**, 431 (1938).
- and J. ENGLISH jr.: A chemical and physiological study of traumatin, a plant wound hormon. *Plant Physiol.* **13**, 331 (1938).
- and J. ERICKSON: The *Phycomyces* assay for thiamin (vitamin B₁): the method and its chemical specificity. *Amer. J. Bot.* **25**, 685 (1938).
- and J. GREENE: Vitamin B₁ and the growth of green plants. *Bot. Gaz.* **100**, 226 (1938).

- BORTELS, H.: (1) Weitere Untersuchungen über die Bedeutung von Molybdän, Vanadium, Wolfram und anderer Erdaschenstoffe für N-bindende und andere Mikroorganismen. Zbl. Bakter. II **95**, 193 (1936).
 — (2) Über die Wirkung von Molybdän und Vanadiumdüngungen auf *Azotobacter*-Zahl und N-Bindung der Erde. Arch. Mikrobiol. **8**, 1 (1937).
- BOTTOMLEY, W. B.: (1) Some accessory factors in plant growth and nutrition. Proc. roy. Soc. Lond. B **88**, 237 (1914).
 — (2) Some effects of organic growth-promoting substances (auximones) on the growth of *Lemna minor* in mineral culture solution. Proc. roy. Soc. Lond. B **89**, 481 (1917).
- BOYSEN-JENSEN, P.: (1) Über Bildung eines Wachstumsregulators durch *Aspergillus niger*. Biochem. Z. **239**, 243 (1931).
 — (2) Über die Bildung und die Bedeutung des Wachstumsregulators bei *Aspergillus niger*. Biochem. Z. **250**, 270 (1932).
 — (3) Growth Hormones in Plants. Translated and Revised by G. S. AVERY jr. and P. BURKHOLDER. New-York and London: McGraw-Hill Comp. 1936.
- BREMER, H. J. and R. H. CLARK: The effect of hormones and bios extracts on amylase activity. Trans. roy. Soc. Canada III **30**, 145 (1936).
- BROWNING, E.: The Vitamins, in Monographs of the PICKETT-THOMPSON Research Laboratory, Vol. 1. London: Baillière, Tindall & Cox 1931.
- BUCHMAN, E. R., R. R. WILLIAMS and J. C. KERESZTESY: Studies of crystalline vitamin B₁. Sulfite cleavage. Chemistry of the basic cleavage product. J. amer. chem. Soc. **57**, 1849 (1938).
- BUCHNER, P.: Tier und Pflanze in Symbiose. Berlin: Gebrüder Bornträger 1930.
- BÜNNING, E.: Wachstum und Stickstoffassimilation bei *Aspergillus niger* unter dem Einfluß von Wachstumsregulatoren und von Vitaminen. Ber. dtsh. bot. Ges. **52**, 423 (1934).
- BURGEFF, H.: (1) Untersuchung über Sexualität und Parasitismus bei Mucorineen. Bot. Abh. **1924**, H. 4, 135.
 — (2) Samenkeimung der Orchideen und Entwicklung ihrer Keimpflanzen. Jena: Gustav Fischer 1936.
 — (3) Pflanzliche Avitaminosen und ihre Behebung durch Vitaminzufuhr. Ber. dtsh. bot. Ges. **52**, 384 (1934).
- BUSTON, W. H. and S. KASINATHAN: (1) The accessory factor necessary for the growth of *Nematospora gossypii*. II. The relation of the accessory factor to "bios". Biochemic. J. **25**, 1671 (1931).
 — and B. PRAMANIK: (1) I. The chemical nature of the accessory factor. Biochemic. J. **25**, 1656 (1931).
 — (2) III. The preparation of concentration of the second accessory factor. Biochemic. J. **28**, 1859 (1933).
 — and S. M. WYLIE: The nitrogen requirement of *Nematospora gossypii* in synthetic media. Ann. Bot., N. s. **2**, 373 (1938).
- CAILLEAU, R.: (1) La nutrition des Flagellés Tetramitidés. Les stérols, facteurs de croissance pour les *Trichomonades*. Ann. Inst. Pasteur **59**, 137 (1937).
 — (2) Le cholestérol et l'acide ascorbique, facteurs de croissance pour le Flagellé Tetramitidé *Trichomonas foetus* RIED. C. r. Soc. Biol. Paris **127**, 861 (1938).
 — (3) L'acide ascorbique, facteur de croissance pour le Flagellé *Trichomonas columbae*. C. r. Soc. Biol. Paris **130**, 319 (1939).
- CAULLERY, M.: Le parasitisme et la symbiose. Encyclop. Scient. Paris: Gaston Doin 1922.

- CLINE, J. K., R. R. WILLIAMS, A. E. RUEHLE and R. E. WATERMAN: Studies of crystalline vitamin B₁. XVI. Identification of the pyrimidine portion. *J. amer. chem. Soc.* **59**, 530 (1937).
- COPPING, Miss A. M.: The effect of "bios" on the growth and metabolism of certain yeasts. *Biochemic. J.* **23**, 1050 (1929).
- CORRENS, C.: Bestimmung, Vererbung und Verteilung des Geschlechtes bei den höheren Pflanzen. *Handbuch der Vererbungswissenschaft*, Bd. II. 1928.
- COWARD, K. H.: (1) Synthesis of vitamin A by a freshwater alga, *Chlorella*. *Biochemic. J.* **19**, 240 (1925).
— (2) *The Biological Standardization of the Vitamins*. Baltimore: William Wood and Comp. 1938.
- DAGYS, J.: (1) Wuchsstoffe der Mikroorganismen in embryonalen Geweben und im Blutungssaft. *Protoplasma (Berl.)* **24**, 14 (1935).
— (2) Die Hefewuchsstoffe in Knospen und Blättern. *Protoplasma (Berl.)* **26**, 20 (1936).
— (3) Die Hefewuchsstoffe in Maiskeimlingen. *Protoplasma (Berl.)* **28**, 205 (1937).
— (4) Über die gebundenen Hefewuchsstoffe. *Protoplasma (Berl.)* **31**, 524 (1938).
- DAVIS, D. J.: (1) Food accessory factors (vitamins) in bacterial culture with special reference to hemophilic bacilli. *J. inf. Dis.* **21**, 392 (1917).
— (2) The accessory factors in bacterial growth. V. The value of the satellite (or symbiosis) phenomenon for the classification of hemophilic bacteria. *J. inf. Dis.* **29**, 187 (1921).
— (3) The accessory factors in bacterial growth. IV. The "satellite" or symbiosis phenomenon of PFEIFFER bacillus (*B. influenzae*). *J. ind. Dis.* **29**, 178 (1921).
- DEVLOO, R.: (1) La purification du bios de WILDIERS. *Cellule* **23**, 361 (1906).
— (2) Un stérol indispensable à la levure. *Arch. internat. Physiol.* **46**, 157 (1938).
- DORFMAN, A., S. KOSER and F. SAUNDERS: The activity of certain nicotinic acid derivatives as growth essential for the dysentery bacillus. *J. amer. chem. Soc.* **60**, 2004 (1938).
- EAGLES, B. A., A. J. WOOD and J. F. BOWEN: Chees-ripening studies. WILDIERS Bios and the lactic acid bacteria. The fraction of bios from alfalfa and the effect of the fractions obtained on the vital activity of the Betacocci. *Canad. J. Res.* **14**, 151 (1936).
— — O. OKULITCH and A. S. KADZIELAWA: WILDIERS bios and the lactic acid bacteria. The relation of bios to the water soluble B-vitamins. *Canad. J. Res. B* **16**, 46 (1938).
- EASTCOTT, E. V.: The isolation and identification of bios. I. *J. physic. Chem.* **32**, 1094 (1928).
- EDDY, W. H., H. L. HEFT, H. C. STEVENSON and R. JOHNSON: Studies in the vitamine content. III. The yeast test as mesure of vitamine B. *J. biol. Chem.* **47**, 249 (1921).
— R. W. KERR and R. R. WILLIAMS: The isolation from autolyzed yeast of crystalline substance melting at 223°, having the properties of a bios. *J. amer. chem. Soc.* **46**, 2846 (1924).
- EIJKMAN, C.: (1) Note sur la prophylaxie du bérubéri. *Janus (Leyde)* **2**, 23 (1897).
— (2) Ein Versuch zur Bekämpfung der Beriberi. *Virchows Arch.* **149**, 187 (1897).
- ELDER, M. L.: The preparation of crude bios. V. *Trans. roy. Soc. Canada III* **30**, 89 (1936).

- ELVEHJEM, C. A., R. J. MADDEN, F. M. STRONG and D. W. WOOLEY: The isolation and identification of the anti-black tongue factor. *J. biol. Chem.* **123**, 137 (1938) [s. auch FROST and ELVEHJEM: *J. of biol. Chem.* **121**, 255 (1937)].
- ENDERS, C. u. M. HEGENDÖRFER: Untersuchungen über den Wuchsstoffgehalt von Hefen. *Biochem. Z.* **299**, 346 (1938).
- ERLENMEYER, H., A. EPPRECHT u. H. v. MEYENBURG: Über das Verhalten des Thiazol-5-carbonsäure-ester-jodmethylats bei Reduktionsversuchen. *Helv. chim. Acta* **20**, 514 (1937).
- EULER, H. v. u. E. ADLER: Über die gegenseitige enzymatische Umwandlung von Codehydrase I und Codehydrase II. *Hoppe-Seylers Z.* **252**, 41 (1938).
- M. MALMBERG, J. ROBEZNIKS u. F. SCHLENK: Cozymase als wasserlösliches Vitamin. *Naturwiss.* **26**, 45 (1938).
- u. T. PHILIPSON: (1) Wasserlösliche Wachstumsfaktoren. *Biochem. Z.* **245**, 418 (1932).
- (2) Gärungsaktivatoren Z und Wachstumsstoffe. *Biochem. Z.* **249**, 245 (1932).
- u. R. VESTIN: Enzymatische Synthese von Cocarboxylase aus Vitamin B₁ und Phosphat. *Naturwiss.* **25**, 416 (1937).
- FARELL, Miss, L. N.: The influence of inositol, bios IIA and bios IIB. *Trans. roy. Soc. Canada III* **29**, 167 (1935).
- FARRIES, E. H. M. and A. F. BELL: On the metabolism of *Nematospora gossypii* and related fungi, with special reference to the source of nitrogen. *Ann. Bot.* **44**, 423 (1930).
- FAWNS, H. T. and A. JUNG: The mineral content of the skin of rats . . . with investigations on the formation of vitamin B₁ by molds. *Biochemic. J.* **27**, 918 (1933).
- FILDES, P.: (1) The nature of the effect of blood pigment upon the growth of *B. influenzae*. *Brit. J. exper. Path.* **3**, 210 (1922).
- (2) The classification of hemoglobinophilic bacteria based upon their relation to blood pigment and to the vitamine factor. *Brit. J. exper. Path.* **4**, 265 (1923).
- (3) The growth requirements of hemolytic influenzae bacilli and the bearing of these upon classification of related organisms. *Brit. J. exper. Path.* **5**, 69 (1924).
- (4) The tryptophan and "sporogenes vitamin" requirements of *B. botulinus*. *Brit. J. exper. Path.* **16**, 309 (1935).
- (5) The growth of *Proteus* on ammonium lactate plus nicotinic acid. *Brit. J. exper. Path.* **29**, 239 (1938).
- and B. C. J. G. KNIGHT: Tryptophane and growth of Bacteria. *Brit. J. exper. Path.* **14**, 343 (1933).
- and G. M. RICHARDSON: (1) The amino-acids necessary for the growth of *Cl. sporogenes*. *Brit. J. exper. Path.* **16**, 326 (1935).
- (2) The nutrition of *Staphylococcus aureus*: Sulphur requirements. *Brit. J. exper. Path.* **18**, 292 (1937).
- — B. C. J. G. KNIGHT and G. P. GLADSTONE: A nutrient mixture suitable for the growth of *Staphylococcus aureus*. *Brit. J. exper. Path.* **17**, 481 (1936).
- FISCHER, A.: Vorlesungen über Bakterien. Jena 1903.
- FRIES, N.: Über die Bedeutung von Wuchsstoffen für das Wachstum verschiedener Pilze. *Symbolae botanicae Upsaliensis*, III, Bd. 2. 1938.
- FROMAGEOT, C. et J. L. TCHANG: (1) Sur les pigments caroténoïdes de *Rhodotorula sarniiei*. *Arch. Mikrobiol.* **9**, 424 (1938).
- (2) Sur la synthèse des pigments caroténoïdes par *Rhodotorula sarniiei*. *Arch. Mikrobiol.* **9**, 434 (1938).

- FULMER, E. J., W. W. DUECKER and V. E. NELSON: The multiple nature of bios. *J. amer. chem. Soc.* **46**, 723 (1923).
- and B. HUESSELMANN: The production of a yeast growth stimulant by heating media under pressure. *Iowa State College J. of Sci.* **1**, 411 (1927).
- and V. E. NELSON: Water soluble B and bios in yeast growth. *J. of biol. Chem.* **51**, 77 (1922).
- A. L. WILLIAMS and C. H. WERKMAN: The effect of sterilisation of media upon their growth promoting properties toward bacteria. *J. Bacter.* **21**, 299 (1931).
- FUNK, C.: *Die Vitamine*. München: J. F. Bergmann 1924.
- FUNK, C. and H. E. DUBIN: Vitamin requirements of certain yeasts and bacteria. *J. of biol. Chem.* **48**, 437 (1921).
- and L. FREEMAN: The presence of an yeast growth-promoting vitamine in cane-sugar. *J. of biol. Chem.* **56**, 851 (1923).
- GLADSTONE, G. P.: The nutrition of *Staphylococcus aureus*: Nitrogen requirements. *Brit. J. exper. Path.* **18**, 322 (1937).
- GOUDSMIT, J. and H. G. K. WESTENBRINK: Determination of aneurin and cocarboxylase separately in animal tissues by means of the thiochrome method. *Acta brevia neerl. Physiol.* **8**, 169 (1938).
- GRASSBERGER, R.: Beiträge zur Bakteriologie der Influenza. *Z. Hyg.* **25**, 453 (1897). — *Zbl. Bakter. I Orig.* **23**, 353 (1898).
- GREWE, R.: Das Aneurin. *Erg. Physiol.* **39**, 252 (1937).
- GROMAKOWSKY, P. I.: "Bios" as a factor of the multiplication of yeast II. The need of different yeast species and strains in "bios". *Microbiologia* **5**, 747 (1936).
- GUILLERMOND, A., M. FONTAINE et A. RAFFY: Sur l'existence dans l'*Eremothecium Ashbyii* d'un pigment jaune se rapportant au groupe des flavines. *C. r. Acad. Sci. Paris* **201**, 1077 (1935).
- GUYÉNOT, E.: Recherches expérimentales sur la vie aseptique et le développement d'un organisme en fonction du milieu. Thèse Sciences. Paris 1917.
- HAHN, M.: Beiträge zur Physiologie einer roten *Torula*-Art. Diss. Techn. Hochschule München (Prof. BOAS) 1934.
- HANSTEEN CRANNER, B.: (1) Zur Biochemie und Physiologie der Grenzschichten lebender Zellen. *Meldinger f. Norges Landbrukshøiskole*, Bd. 2, H. 1 u. 2. 1922.
- (2) Weitere Beiträge zur Biochemie und Physiologie der pflanzlichen Zellphosphatide. *Meldinger f. Norges Landbrukshøiskole* 1925.
- HARTELIUS, V.: (1) Über das Vorkommen von Wuchsstoff B. *Biochem. Z.* **261**, 89 (1933).
- (2) The occurrence of growth substance B in urine. *C. r. Trav. Labor. Carlsberg* **19**, Nr 6 (1933).
- (3) XI. Der Einfluß der Bioswuchsstoffe und der Stoffwechselprodukte der Hefe auf Stickstoffaufnahme und -ausscheidung der Hefe. *C. r. Trav. Labor. Carlsberg*, sér. physiol. **22**, 211 (1938).
- u. N. NIELSEN: Ausschüttelung des Faktors Z und der Bioswuchsstoffe durch Hefe. *C. r. Trav. Labor. Carlsberg* **22**, 281 (1938).
- u. SVERRE HJORTH-HANSEN: Über das Vorkommen von Wuchsstoff B in tierischen Organen. *C. r. Trav. Labor. Carlsberg*, sér. physiol. **21**, 221 (1936).
- HASSELT, W. VAN: Onderzoekingen over het bios-vraagstuk. Diss. Utrecht 1935.
- HAWKER, Miss L. E.: (1) The effect of certain accessory growth substances on the sporulation of *Melanospora destruens* and of some other fungi. *Ann. Bot.* **50**, 699 (1938).
- (2) Effect of growth substances on growth and fruiting of *Melanospora destruens*. *Nature (Lond.)* **142**, 1038 (1938).

- HENNESSY, D. J. and L. R. CERECEDO: The determination of free and phosphorylated thiamin by a modified thiochrom assay. *J. amer. chem. Soc.* **61**, 179 (1939).
- HEWITT, L. F.: Oxydation-Reduction potentials in Bacteriology and Biochemistry. London County Council 1937.
- HILLS, G. M.: Aneurin (Vitamin B₁) and pyruvat metabolism by *Staphylococcus aureus*. *Biochemic. J.* **32**, 383 (1938).
- HOGG, E. G. VAN T': Aseptic culture of insects in vitamin research. *Z. Vitaminforsch.* **4**, 300 (1935).
- HUGHES, T. P.: Growth requirement of Staphylococci. *J. Bacter.* **23**, 437 (1932).
- IDE, M.: (1) The bios of WILDIERS and the cultivation of yeast. *J. of biol. Chem.* **46**, 521 (1921).
— (2) Signification du bios. *Rev. belge Sci. méd.* **3**, No 4 (1931).
- INGRAHAM, M. A. and H. STEENBOCK: The relation of micro-organisms to carotenoids and vitamin A. II. The production of carotenoids by *Mycobacterium phlei*. *Biochemic. J.* **29**, 2553 (1935).
- ITZEROTT, D.: Die Wirkung wuchsstoffhaltiger Substanzen junger Maispflanzen auf das Wachstum von *Ustilago zaeae*. *Arch. Mikrobiol.* **9**, 368 (1938).
- JAMESON, H. L., J. C. DRUMOND and K. H. COWARD: Synthesis of vitamin A by a marine diatom (*Nitzschia closterium*), growing in pure culture. *Biochemic. J.* **16**, 482 (1922).
- JANSEN, B. C. P. and W. F. DONATH: (1) On the isolation of the antiberiberi vitamin. *Proc. Koninklijke Akad. Wetensch. Amsterd.* **29**, 1390 (1926).
— (2) A chemical determination of aneurin (= vitamin B₁) by the thiochrome reaction. *Rec. Trav. chim. Pays-Bas (Amsterd.)* **55**, 1046 (1936).
- JAVILLIER, M.: Une cause d'erreur dans l'étude de l'action biologique des éléments chimiques; la présence de traces de zinc dans le verre. *C. r. Acad. Sci. Paris* **158**, 140 (1914).
- JUNG, A. u. W. H. SCHOPFER: Adermingehalt und Aderminwirkung bei *Phycomyces*. *Verh. Ver. schweiz. Physiol. Febr.* **1939**.
— Carotinoide, Flavine und Vitamine B₂. NOBEL-Vortrag in: *Les Prix NOBEL en 1937*. Stockholm 1938.
- KARRER, P. u. O. WARBURG: Jodmethylat des Nicotinsäureamids. *Biochem. Z.* **285**, 297 (1936).
- KEILIN, D.: *Erg. Enzymforsch.* **2**, 239 (1933).
- KERESZTESY, J. C. and J. R. STEVENS: Vitamin B₆. *J. amer. chem. Soc.* **60**, 1267 (1938).
- KERL, I.: Über Regenerationsversuche an Fruchtkörpern und andere entwicklungsphysiologische Untersuchungen bei *Pyronema confluens*. *Z. Bot.* **31**, 129 (1937).
- KINNERSLEY, H. W. and R. A. PETERS: The formaldehyde-azo test for Vitamin B₁. *Biochemic. J.* **28**, 667 (1934).
- KITA, G.: Zur Frage der Assimilierbarkeit der Maltose durch Hefen. *Z. Gärungsphysiol.* **4**, 321 (1915).
- KLUYVER, A. J.: (1) Biochemische Suikerbepalingen. *Diss. Leyden* 1914.
— (2) Die Assimilierbarkeit der Maltose durch Hefen. *Biochem. Z.* **52**, 486 (1913).
- KNIGHT, B. C. J. G.: (1) An essential growth factor for *Staphylococcus aureus*. *Brit. J. exper. Path.* **16**, 315 (1935).
— (2) Bacterial Nutrition. Material for a comparative Physiology of Bacteria. Medical Research Council London 1936.
— (3) The nutrition of *Staphylococcus aureus*: Nicotinic acid and Vitamin B₁. *Biochemic. J.* **31**, 731 (1937).

- KNIGHT, B. C. J. G.: (4) The nutrition of *Staphylococcus aureus*. The activities of nicotin-amid, aneurin (vitamin B₁) and related compounds. *Biochemic. J.* **31**, 966 (1937).
- and P. FILDES: (1) Oxydation-reduction studies in relation to bacterial growth. III. The positive limit of O-R. potential required for the germination of *B. tetani* spores in vitro. *Biochemic. J.* **24**, 1496 (1930).
- — (2) A Vitamin necessary for the growth of *B. sporogenes*; its relation to auxin and other growth factors. *Brit. J. exper. Path.* **14**, 112 (1933).
- and H. McILWAIN: The specificity of aneurin and nicotinamid in the growth of *Staphylococcus aureus*. *Biochemic. J.* **32**, 1241 (1938).
- KNORR, M.: Die Entwicklung des Vitamingedankens in der Bakteriologie. *Erg. Hyg.* **7**, 641 (1925).
- KOCH, A.: (1) Symbionten und Vitamine. *Naturwiss.* **21**, 543 (1933).
- (2) Über das Verhalten symbiontenfreier *Sitodrepa*-Larven. *Biol. Zbl.* **53**, 199 (1933).
- KÖGL: Wirkstoffprinzip und Pflanzenwachstum. *Naturwiss.* **25**, 465 (1937).
- u. A. J. HAGEN-SMIT: Biotin und Aneurin als Phytohormone. *Hoppe-Seylers Z.* **243**, 209 (1936).
- u. W. VAN HASSELT: (1) Isolierung von Bios I (Meso-Inosit) aus Hefe. *Hoppe-Seylers Z.* **242**, 74 (1936).
- — (2) Über das Vorkommen von Biotin im tierischen Organismus. *Hoppe-Seylers Z.* **243**, 189 (1936).
- u. P. G. F. R. KOSTERMANN: Heteroauxin als Stoffwechselprodukt niederer pflanzlicher Organismen. Isolierung aus Hefe. *Hoppe-Seylers Z.* **228**, 113 (1934).
- KÖGL, F., P. FILDES, A. LWOFF, B. C. J. G. KNIGHT, G. M. RICHARDSON, H. M. SINCLAIR and M. A. THINKE: Discussion meeting on growth factors *Proc. roy. Soc. Lond. B* **124**, 1 (1937).
- u. N. FRIES: Über den Einfluß von Biotin, Aneurin und Mesoinosit auf das Wachstum verschiedener Pilzarten. *Hoppe-Seylers Z.* **249**, 93 (1937).
- u. B. TÖNNIS: Über das Biosproblem. Darstellung von kristallisiertem Biotin aus Eigelb. *Hoppe-Seylers Z.* **242**, 43 (1936).
- u. W. J. VAN WAGTENDONK: Über die Bedeutung von Biotin für das Wachstum von *Staphylococcus pyogenes aureus*. *Rec. Trav. chim. Pays-Bas (Amsterd.)* **57**, 747 (1938).
- KOSER, S. A., A. DORFMAN and F. SAUNDERS: (1) Nicotinic acid as an essential growth-substance for dysentery bacilli. *Proc. Soc. exper. Biol. a. Med.* **38**, 311 (1938).
- R. D. FINKLE, A. DORFMAN and F. SAUNDERS: (2) Studies on bacterial nutrition. The possible role of inorganic salts and of alterations in the culture medium in providing growth-promoting effects. *J. inf. Dis.* **62**, 202 (1938).
- — M. V. GORDON and F. SAUNDERS: (3) A comparative Study of the growth-promoting properties of various substances. *J. inf. Dis.* **62**, 209 (1938).
- and F. SAUNDERS: (4) Accessory growth factors for Bacteria and related microorganisms. *Bacteriological Rev.* **2**, 99 (1938).
- — (5) Gelatin as a source of growth-promoting substances for bacteria. *J. Bacter.* **36**, 57 (1938).
- KREBS, H. A.: Dismutation of pyruvic acid in *Gonococcus* and *Staphylococcus*. *Biochemic. J.* **31**, 661 (1937).
- KUHN, R., TH. WAGNER-JAUREGG u. H. KALTSCHMIDT: Über die Verbreitung der Flavine im Pflanzenreich. *Ber. dtsh. chem. Ges.* **67**, 1452 (1934).
- u. G. WENDT: Über das aus Reiskleie und Hefe isolierte Adermin (Vitamin B₆). *Ber. dtsh. chem. Ges.* **60**, 1184 (1938).

- LANDY, M.: Effect of nicotinic acid, its isomers and related compounds upon nutrition of *Staphylococcus aureus*. Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. **38**, 504 (1938).
- LASSEN, H. K.: Vitamin B₁ and B₂ content of various yeasts and relation of this content to the culture medium. Acta path. scand. (Københ.) **13**, 309 (1936).
- LASSEUR, PH. et F. GIRARDET: L'eau pure en biologie. Bull. Soc. Chim. biol. Paris **6**, 314 (1924).
- LAVOLLAY, J. et LABORAY FRANÇOISE: (1) Sur les circonstances d'apparition de pigments jaunes dans le liquide de culture d'*Aspergillus niger*. C. r. Acad. Sci. Paris **206**, 1055 (1938).
- — (2) Caractérisation de la lactoflavine produite par *Aspergillus niger* v. TGH. partiellement carencé en magnésium. C. r. Acad. Sci. Paris **208**, 1053 (1939).
- LEDERER, E.: Sur les caroténoïdes de quelques champignons. C. r. Soc. Biol. Paris **117**, 1083 (1934).
- LENDNER, A.: Les Mucorinées de la Suisse, in Matér. Flore cryptog. suisse, Vol. 3. 1907.
- LEONIAN, L. H.: (1) The effect of auxin upon *Phytophthora cactorum*. J. agricult. Res. **51**, 277 (1935).
- (2) Control of sexual reproduction in *Phytophthora cactorum*. Amer. J. Bot. **23**, 188 (1936).
- (3) Effect of auxin from some green *Algae* upon *Phytophthora cactorum*. Bot. Gaz. **97**, 854 (1936).
- and V. G. LILLY: Is heteroauxin a growth-promoting substance? Amer. J. Bot. **24**, 135 (1937).
- LEPESCHKIN, W.: The influence of Vitamin upon the developpement of yeasts and molds. Contribution to the bios problem. Amer. J. Bot. **11**, 164 (1924).
- LESH, J. B., L. A. UNDERKOFER and E. I. FULMER: The effect of the composition of the medium upon the growth of yeasts in the presence of bios preparations. II. The response of several strains of *Saccharomyces cerevisiae*. J. amer. chem. Soc. **60**, 2505 (1938).
- LIEBIG, J. v.: Sur la fermentation et la source de la force musculaire. Ann. de Chim. et Physique **23**, 5 (1871).
- LINDNER, P.: Zur Verflüchtigung des Biosbegriffs. Z. techn. Biol., Biosnummer **7**, 79 (1917).
- LINOSSIER, G.: (1) Les vitamines et les champignons. C. r. Soc. Biol. Paris **82**, 381 (1919).
- (2) Les vitamines et les champignons. C. r. Soc. Biol. Paris **83**, 346 (1920).
- LIPMANN, F.: (1) Hydrogenation of vitamin B₁. Nature (Lond.) **138**, 1097 (1936).
- (2) Die Dehydrierung der Brenztraubensäure. Enzymologia (Haag) **4**, 65 (1937).
- (3) Über den Umsatz der Brenztraubensäure und den Mechanismus der Vitamin B₁-Wirkung. Skand. Arch. Physiol. (Berl. u. Lpz.) **76**, 255 (1937).
- and G. PERLMANN: Hydrogenation of vitamin B₁ and other quaternary thiazoles. J. amer. chem. Soc. **60**, 2574 (1938).
- LIPSCHÜTZ, M., V. R. POTTER and C. A. ELVEHJEM: (1) Relation of vitamin B₁ to cocarboxylase. Biochemic. J. **32**, 474 (1938).
- — — (2) The metabolism of pyruvic acid in vitamin B₁ deficiency and in inanition. J. of biol. Chem. **123**, 267 (1938).

- LIPSCHÜTZ, M., V. R. POTTER and C. A. ELVEHJEM: (3) The mechanism of the enzymatic synthesis of cocarboxylase. *J. of biol. Chem.* **124**, 147 (1938).
- LOHMANN, G.: Nährstoffwirkung und Giftstoffwirkung bei *Aspergillus niger*. *Arch. Mikrobiol.* **5**, 31 (1934).
- LOHMANN, K. u. PH. SCHUSTER: (1) Über die Cocarboxylase. *Naturwiss.* **25**, 26 (1937).
- — — (2) Untersuchungen über die Cocarboxylase. *Biochem. Z.* **294**, 188 (1937).
- LUCAS, G. H. W.: The fractionation of bios, and comparison of bios with vitamins B and C. *J. physic. Chem.* **28**, 1180 (1924).
- LUMIÈRE, A.: (1) Les vitamines sont-elles nécessaires au développement des végétaux? *C. r. Acad. Sci. Paris* **171**, 271 (1920).
- (2) Influence des vitamines et des auximones sur la croissance des végétaux. *Ann. Inst. Pasteur* **35**, 102 (1921).
- LUND, A.: Über die Wirkung des Follikelhormons auf das Wachstum einiger Mikroorganismen. *C. r. Trav. Labor. Carlsberg* **21**, 231 (1936).
- LWOFF, A.: (1) Recherches biochimiques sur la nutrition des Protozoaires. Monographie de l'Institut Pasteur. Paris: Masson & Cie. 1932.
- (2) Die Bedeutung des Blutfarbstoffes für die parasitischen Flagellaten. *Zbl. Bakter. I Orig.* **130**, 498 (1933/34) [u. *C. r. Soc. Biol. Paris* **113**, 231 (1933)].
- (3) Etude sur les fonctions perdues. *Ann. Fermentations* **2**, 419 (1936).
- (4) La synthèse de l'aneurine par le Protozoaire, *Acanthamoeba castellanii*. *C. r. Soc. Biol. Paris* **128**, 455 (1938).
- (5) Les facteurs de croissance pour les microorganismes. Rapport au 1^{er} Congrès international de l'association des microbiologistes de langue française, 1938, p. 58.
- LWOFF, M.: (1) Recherches sur la nutrition des Trypanosomides. *Ann. Inst. Pasteur* **51**, 55 (1933).
- (2) Remarques sur la nutrition des Trypanosomides, et des bactéries parahémotrophes. Le fer actif de BAUDISCH. *Ann. Inst. Pasteur* **51**, 707 (1933).
- (3) L'aneurine, facteur de croissance pour le Flagellé Trypanosomide *Strigomonas oncopelti* (NOGUCHI et TILDEN.) *C. r. Soc. Biol. Paris* **126**, 771 (1937).
- (4) L'hématine et l'acide ascorbique, facteurs de croissance pour le Flagellé *Schizotrypanum cruzi*. *C. r. Acad. Sci. Paris* **206**, 540 (1938).
- (5) L'aneurine, facteur de croissance pour les *Strigomonas* (Flagellés Trypanosomides). *C. r. Soc. Biol. Paris* **128**, 241 (1938).
- LWOFF, A. et M.: (1) Sur la nature du facteur V. *C. r. Acad. Sci. Paris* **203**, 520 (1936).
- (2) Sur le rôle physiologique des codéhydrogénases. *C. r. Acad. Sci. Paris* **203**, 896 (1936).
- (3) L'aneurine, facteur de croissance pour le Cilié *Glaucoma piriformis*. *C. r. Soc. Biol. Paris* **126**, 664 (1937).
- (4) Studies on codehydrogenase. I. Nature of growth factor "V". II. Physiological fonction of growth factor "V". *Proc. roy. Soc. Lond. B* **122**, 352 (1937).
- (5) Rôle physiologique de l'hémine pour *Hemophilus influenzae* PFEIFFER. *Ann. Inst. Pasteur* **59**, 129 (1937).
- (6) La spécificité de l'aneurine, facteur de croissance pour le Cilié *Glaucoma piriformis*. *C. r. Soc. Biol. Paris* **127**, 1170 (1938).
- et H. DUSI: (1) Le thiazol, facteur de croissance pour *Polytoma ocellatum* (Chlamydomonadiné). Importance des constituants de l'aneurine pour les Flagellés leucophytes. *C. r. Acad. Sci. Paris* **205**, 882 (1937).

- LWOFF, A. et H. DUSI: (2) La pyrimidine et le thiazol, facteurs de croissance pour le Flagellé *Polytomella caeca*. C. r. Acad. Sci. Paris **205**, 630 (1937).
- (3) Le thiazol, facteur de croissance pour les Flagellés *Polytoma caudatum* et *Chilomonas paramaecium*. C. r. Acad. Sci. Paris **205**, 756 (1937).
- (4) Influence de diverses substitutions sur l'activité du thiazol, considéré comme facteur de croissance pour quelques Flagellés Leucophytes. C. r. Soc. Biol. Paris **128**, 238 (1938).
- (5) L'activité de diverses pyrimidines, considérées comme facteurs de croissance pour les Flagellés *Polytomella caeca* et *Chilomonas paramaecium*. C. r. Soc. Biol. Paris **127**, 1408 (1938).
- et E. LEDERER: Remarques sur «l'extrait de terre» envisagé comme facteur de croissance pour les Flagellés. C. r. Soc. Biol. Paris **119**, 971 (1935).
- et I. PIROSKY: Détermination du facteur de croissance pour *Hemophilus ducreyi*. C. r. Soc. Biol. Paris **124**, 1169 (1937).
- et A. QUERIDO: Dosage de l'amide de l'acide nicotinique au moyen du test *Proteus*. Principe de la méthode. C. r. Soc. Biol. Paris **129**, 1039 (1938).
- MARIA, G. DI: Ricerche sulla vita asettica. Studi sul fabbisogno vitaminico e sull'azione svolta dai microorganismi per lo sviluppo della Sarcophaga. Arch. Zool. ital. **25**, 469 (1938).
- MELIN, E.: Untersuchungen über die Bedeutung der Baummykorrhiza. Eine ökologisch-physiologische Studie. Jena: Gustav Fischer 1925.
- MELIN, E. u. G. LINDENBERG: Über den Einfluß von Aneurin und Biotin auf das Wachstum einiger Mykorrhizenpilze. Botaniska Notiser **1939**, 241.
- MILLER, W. L.: (1) WILDIERS bios. Trans. roy. Soc. Canada III **29**, 163 (1935).
- (2) WILDIERS bios. Preparation of crude bios fraction from tomato juice. Trans. roy. Soc. Canada III **30**, 99 (1936).
- E. V. EASTCOTT and E. M. SPARLING: The fractionation of "bios II". Trans. roy. Soc. Canada III **26**, 165 (1932).
- and J. E. MACONACHIE: WILDIERS bios: the fractionation of bios from yeast. J. amer. chem. Soc. **55**, 1502 (1933).
- MIRIMANOFF, A.: Sur les pseudo-facteurs de croissance du moût de raisin. C. r. Soc. physique-hist. natur. Genève **52**, 172 (1935).
- et A. RAFFY: Obtention de la flavine à l'état cristallisé à partir d'*Eremothecium Ashbyii*. C. r. Acad. Sci. Paris **206**, 1507 (1938).
- MITSCHERLICH, E.: Das Gesetz des Minimums und das Gesetz des abnehmenden Bodenertrages. Landw. Jb. **38**, 537 (1909).
- MOCKERIDGE, F. A.: Some effects of growth promoting substances (auximones) on the soil organisms concerned in the nitrogen cycle. Proc. roy. Soc. Lond. B **89**, 508 (1917).
- MÖLLER, E. F.: Vitamin B₆ (Adermin) als Wuchsstoff für Milchsäurebakterien. Hoppe-Seylers Z. **254**, 285 (1938).
- MOEVUS, F.: Carotinoide als Sexualstoffe von Algen. Jb. Bot. **86**, 753 (1938).
- MOSER, W.: Untersuchungen über Wachstumsfaktoren bei Mikroorganismen. Die Trennung der Wirkstoffe vitaminischer Natur des Weizenkeimes. Diss. Bern. (im Druck).
- MOSHER, W. A., D. H. SAUNDERS, L. B. KINGERY and R. J. WILLIAMS: Nutritional requirements of the pathogenic mold *Trichophyton interdigitale*. Plant Physiol. **11**, 795 (1936).
- MUELLER, H. J.: (1) Pimelic acid as a growth stimulant for *C. diphtheriae*. J. Bacter. **34**, 164 (1937).
- (2) Nicotinic acid as a growth accessory substance for the diphtheria bacillus. J. Bacter. **34**, 429 (1937).

- MUELLER, H. J. and S. COHEN: Beta-alanine as a growth accessory for the diphtheria bacillus. *J. Bacter.* **34**, 381 (1937).
- and Y. SUBBAROW: Studies on cultural requirements of bacteria. IX. Tissue extractives in the growth of the diphtheria bacillus. *J. Bacter.* **34**, 153 (1937).
- MÜLLER, W.: Untersuchungen über die Symbiose von Tieren mit Pilzen und Bakterien. III. *Arch. Mikrobiol.* **5**, 84 (1934).
- MÜLLER, W. F.: Zur Physiologie von *Mucor Ramannianus*. *Ber. schweiz. bot. Ges.* **47**, 277 (1937).
- Zur Wirkstoffphysiologie von *Mucor Ramannianus*. Diss. Bern (im Druck).
- u. W. H. SCHOPFER: L'action de l'aneurine et de ses constituants sur *Mucor Ramannianus* MÖLL. *C. r. Acad. Sci. Paris.* **205**, 687 (1937).
- MÜLLER, W. H.: De l'influence de vitamines hydrosolubles sur l'activation de la croissance de bactéries cocciformes. Thèse Pharmacie Strasbourg 1938.
- NARANAYAN, B. T.: The chemical investigation of "bios". I. *Biochemic. J.* **24**, 6 (1930).
- and J. C. DRUMMOND: The concentration of vitamin B₂. *Biochemic. J.* **24**, 19 (1930).
- NEIPP, L.: De l'influence de divers cations sur le croît microbien. Paris: Masson & Cie. 1937.
- NIELSEN, N.: (1) Untersuchungen über einen neuen wachstumsregulierenden Stoff: Rhizopin. *Jb. Bot.* **73**, 125 (1930).
- (2) The effect of Rhizopin on the production of matter of *Aspergillus niger*. *C. r. Trav. Labor. Carlsberg* **19**, Nr 5 (1931).
- (3) Über das Vorkommen von Wuchsstoff bei *Boletus edulis*. *Biochem. Z.* **249**, 196 (1932).
- (4) Untersuchungen über Hefewuchsstoff. *C. r. Trav. Labor. Carlsberg, sér. physiol.* **21**, 152 (1935).
- (5) Der Einfluß der Wuchsstoffe auf die Senkungsgeschwindigkeit der Hefe. *Arch. Mikrobiol.* **8**, 422 (1937).
- (6) Recherches récentes sur les facteurs de croissance. (Zusammenfassung.) *Ann. Fermentations* **2**, 577 (1937).
- (7) Untersuchungen über die Senkungsgeschwindigkeit der Hefe. *C. r. Trav. Labor. Carlsberg, sér. physiol.* **22**, 61 (1937).
- (8) Über die Aufnahme von Wuchsstoffen durch Ausschütteln mit Hefe. *Protoplasma (Berl.)* **30**, 130 (1938).
- u. HARTELIUS, V.: (1) Über die Co-Wuchsstoffwirkung einiger Metallmischungen. *Biochem. Z.* **276**, 183 (1934).
- — (2) The separation of growth promoting substances. *C. r. Trav. Labor. Carlsberg* **19**, Nr 8 (1932).
- — (3) Über die Bildung eines Wuchsstoffes (Gruppe B) auf chemischem Wege. *Biochem. Z.* **256**, 2 (1932).
- — (4) Investigation of the growth of *Aspergillus niger* at different hydrogen ion concentration, with and without the addition of growth promoting substance B. *C. r. Trav. Labor. Carlsberg* **19**, Nr 15 (1933).
- — (5) Untersuchungen über die Wirkung einiger Metalle als Co-Wuchsstoffe. *Biochem. Z.* **259**, 340 (1933).
- — (6) Chemistry of growth substance B. *Nature (Lond.)* **138**, 203 (1936).
- — (7) Untersuchungen über die Stickstoffassimilation der Hefe. VII. Untersuchungen über das Vermögen der Hefe, Aminosäuren zu assimilieren. *C. r. Trav. Labor. Carlsberg, sér. physiol.* **21**, 395 (1936).
- — (8) VIII. Untersuchungen über die Stickstoffabgabe der Hefe während des Wachstums. *C. r. Trav. Labor. Carlsberg, sér. physiol.* **22**, 23 (1937).

- NIELSEN, N. u. HARTELIUS, V.: (9) Über die Trennung der auf die Stoffproduktion der Hefe und Schimmelpilze einwirkenden Wuchsstoffe. C. r. Trav. Labor. Carlsberg, sér. physiol. **22**, No 1 (1937).
- (10) Wuchsstoffwirkung der Aminosäuren. I. Untersuchungen über die Wuchsstoffwirkung der Aminosäuren gegenüber Hefe. C. r. Trav. Labor. Carlsberg, sér. physiol. **22**, 250 (1938). — S. auch Biochem. Z. **295**, 211 (1938).
- (11) III. Untersuchungen über die Wuchsstoffwirkung von β -Alanin, β -Alanylglycin, Asparaginsäure, Glycyl-Asparaginsäure und verwandte Stoffe auf Hefe. C. r. Trav. Labor. Carlsberg, sér. physiol. **22**, 271 (1938). S. auch Biochem. Z. **296**, 359 (1938).
- u. FANG-SING-FANG: Vergleichende Untersuchungen über Wuchsstoffwirkung auf verschiedene Arten von Hefen und Schimmelpilzen. Planta (Berl.) **27**, 367 (1937).
- NIETHAMMER, A.: Über das Gesetz vom Minimum bei Pilzkulturen. Biochem. Z. **165**, 168 (1925).
- NIKITINSKY, J.: Über die Beeinflussung der Entwicklung einiger Schimmelpilze durch ihre Stoffwechselprodukte. Jb. Bot. **40**, 1 (1904).
- NILSSON, R., G. BJÄLFVE u. D. BURSTRÖM: (1) Über Zuwachsfaktoren bei *Bact. radiciala*. Ann. Landw. Hochschule Schwedens **5**, 291 (1938). — S. auch Naturwiss. **26**, 284 (1938).
- — — (2) Über Zuwachsfaktoren bei *Bact. radiciala*. Ann. Landw. Hochschule Schwedens **6**, 299 (1938). — S. auch Naturwiss. **26**, 661 (1938).
- — — (3) Über Zuwachsfaktoren bei *Bact. radiciala*. Ann. Landw. Hochschule Schwedens **7**, 51 (1938). — S. auch Naturwiss. **26**, 840 (1938).
- NOECKER, N. L.: Vitamin B₁ in the nutrition of four species of wood-destroying fungi. Amer. J. Bot. **25**, 345 (1938).
- OKUNUKI, K.: Über die Beeinflussung des Wachstums der Schimmelpilze durch die von Rosahefen gebildeten Stoffe. Jap. J. of Bot. **5**, 401 (1931).
- OLSEN, O.: Über die Bedeutung des Blutes für das Wachstum des PFEIFFERschen Influenzabazillus. Zbl. Bakter. I Orig. **85**, 12 (1921).
- ONDRATSCHEK, K.: Über die Brauchbarkeit einiger Glassorten für Algenreinkulturen. Arch. Mikrobiol. **6**, 532 (1935).
- ORLA-JENSEN, S., N. C. OTTE u. AGNETE SNOG-KJAER: (1) Der Vitaminbedarf der Milchsäurebakterien. Zbl. Bakter. II **94**, 434 (1936).
- — — (2) Der Vitaminbedarf verschiedener Bakterien außerhalb der Gruppe der Milchsäurebakterien der Milch. Zbl. Bakter. II **94**, 447 (1936).
- — — (3) Über Wuchsstoffe in den Peptonen. Zbl. Bakter. II **94**, 452 (1936).
- ORR-EWING, J. and V. READER: (1) *Streptothrix corallinus* in the estimation of vitamin B₁. Biochemic. J. **22**, 440 (1928).
- — (2) Note on the *Meningococcus* as a source of growth factor for *Streptothrix corallinus*. Biochemic. J. **22**, 443 (1928).
- ORTH, H.: Die Wirkung des Follikelhormons auf die Entwicklung der Pflanze. Z. Bot. **27**, 565 (1934).
- PAPACOSTAS, G. et J. GATÉ: Les associations microbiennes. Leurs applications thérapeutiques. Encyclop. Scientif. Paris: Gaston Doin 1928.
- PAPPENHEIMER, A. M.: The nature of the "sporogenes vitamin", an essential growth factor for *Cl. sporogenes* and related organisms. Biochemic. J. **29**, 2057 (1935).
- PASTEUR, L.: (1) Mémoire sur la fermentation alcoolique. Ann. de Chim. et Physique, III. s. **58**, 323 (1860) (Oeuvres **2**, 94).
- (2) Mémoire sur la fermentation appelée lactique. Ann. de Chim. et Physique, III. s. **52**, 404 (1858) (Oeuvres **2**, 12).

- PASTEUR, L.: (3) Note sur un mémoire de M. LIEBIG relatif aux fermentations. C. r. Acad. Sci. Paris **73**, 1419 (1871) (Oeuvres **2**, 363).
- (4) Nouveaux faits concernant l'histoire de la fermentation alcoolique. C. r. Acad. Sci. Paris **47**, 1011 (1858).
- PESKETT, G.: Growth factors for lower organisms. Biol. Rev. Cambridge philos. Soc. **8**, 1 (1933).
- PETERS, R. A.: (1) Herben Lectures II. J. State Med. **38**, 63 (1930). (In WILLIAMS and SPIES.)
- (2) Die Physiologie des Vitamins B₁. Dtsch. med. Wschr. **1937** **II**, 1144.
- (3) Pyruvate-oxydase in brain. Co-carboxylase. Biochemic. J. **31**, 2240 (1937).
- (4) Co-carboxylase and vitamin B₁ in brain. Chem. a. Ind. **56**, 934 (1937).
- and J. R. O'BRIEN: The Vitamin-B group. Annual Rev. Biochem. **7**, 305 (1938).
- H. W. KINNERSLEY, J. ORR-EWING and V. READER: The relation of vitamin B₁ to the growth-promoting factor for a *Streptothrix*. Biochemic. J. **22**, 445 (1928).
- PFEIFFER, R.: Die Ätiologie der Influenza. Z. Hyg. **13**, 357 (1892).
- PHILIPSON, T.: Über Aktivator Z und seine Stellung zum Zuwachsfaktor der Hefe, Bios und den Vitaminen B. Hoppe-Seylers Z. **193**, 15 (1930).
- PIRSCHLE, K.: (1) Vergleichende Untersuchungen über die physiologische Wirkung der Elemente nach Wachstumsversuchen mit *Aspergillus niger* (Stimulation und Toxizität). Planta (Berl.) **23**, 177 (1934); **24**, 649 (1935).
- (2) Die Bedeutung der Spurenelemente für Ernährung, Wachstum und Stoffwechsel der Pflanzen. Erg. Biol. **15**, 69 (1938).
- PRINGSHEIM, E. G.: (1) Über den Einfluß der Nährstoffmenge auf die Entwicklung der Pilze. Z. Bot. **6**, 577 (1914).
- (2) Wuchsstoffe im Erdboden? Naturwiss. **23**, 197 (1935).
- RAFFY, A.: (1) Dosages des flavines au cours du développement dans les cultures d'*Eremothecium Ashbyii*. C. r. Acad. Sci. Paris **205**, 1005 (1937).
- (2) Propriétés vitaminiques de la flavine d'*Eremothecium Ashbyii*. C. r. Soc. Biol. Paris **126**, 875 (1937).
- RAHN, O. and C. P. HEGARTY: Accessory factors in lactic acid fermentation. Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. **38**, 218 (1938).
- RANDOIN, L. et H. SIMONNET: Les données et inconnues du problème alimentaire. II. La question des vitamines in «Les problèmes biologiques». Les presses universitaires de France, 1927.
- RANKER, E. R.: Synthetic nutrient solutions for culturing *Ustilago zeae*. J. agricult. Res. **41**, 435 (1930).
- RAULIN, J.: Etudes chimiques sur la végétation. Thèse sciences. Paris 1870.
- READER, V.: (1) The relation of the growth of certain microorganisms to the composition of the medium. I. The synthetic culture medium. Biochemic. J. **21**, 901 (1927).
- (2) II. The effect of changes of surface tension on growth. Biochemic. J. **21**, 908 (1927).
- (3) III. The effect of the addition of growth-promoting substances to the synthetic medium on the growth of *Streptothrix corallinus*. Biochemic. J. **22**, 434 (1928).
- (4) IV. The addition of mannitol. Biochemic. J. **23**, 61 (1929).
- RESÜHR, B.: Untersuchungen über die Symbiose über die Symbiose von Tieren mit Pilzen und Bakterien. VI. Arch. Mikrobiol. **9**, 31 (1938).
- REUTER, L.: Eine Testmethode zum quantitativen Nachweis von Wuchsstoff B. Protoplasma (Berl.) **25**, 614 (1936).

- RICHARDS, O. W.: The stimulation of yeast growth by thallium, a "bios" impurity of asparagin. J. of biol. Chem. **96**, 405 (1932).
- RICHARDSON, G. M.: The nutrition of *Staphylococcus aureus*. Necessity of uracil in anaerobic growth. Biochemic. J. **30**, 2184 (1936).
- RIPPEL, A. u. B. LEHMANN: Über die Wirkung von geringen Mengen von Agar auf Wachstum und Stickstoffbindung von *Azotobacter* und auf andere mikrobiologische Vorgänge. Arch. Mikrobiol. **7**, 210 (1936).
- RIPPEL, K.: (1) Über den Nachweis von Teilungswuchsstoffen mittels *Saccharomyces cerevisiae* als Testorganismus. Ber. dtsh. bot. Ges. **54**, 487 (1936).
- (2) Zur Methodik des quantitativen Nachweises von Zellteilungshormon mittels *Saccharomyces cerevisiae*. Planta (Berl.) **27**, 381 (1937).
- RIVERS, T. M.: Bacillus haemoglobinophilus canis. J. Bacter. **7**, 579 (1922).
- and E. L. LEUSCHNER: Hemolytic influenza bacilli. Johns Hopkins Hosp. Bull. **32**, 130 (1921).
- and A. K. POLE: Growth requirements of influenza bacilli. Johns Hopkins Hosp. Bull. **32**, 202 (1921).
- ROBBINS, W. J.: (1) Organisms requiring vitamin B₁. Proc. nat. Acad. Sci. U.S.A. **24**, 53 (1938).
- (2) Thiamin and the growth of species of *Phytophthora*. Bull. Torrey bot. Club **65**, 267 (1938).
- and M. A. BARTLEY: Thiazole and the growth of excised tomato roots. Proc. nat. Acad. Sci. U.S.A. **23**, 385 (1937).
- — A. G. HOGAN and L. R. RICHARDSON: Pyrimidine and thiazole intermediates as substitutes for vitamin B₁. Proc. nat. Acad. Sci. U.S.A. **23**, 388 (1937).
- and F. KAVANAGH: (1) Intermediates of vitamin B₁ and growth of *Phycomyces*. Proc. nat. Acad. Sci. U.S.A. **23**, 499 (1937).
- — (2) Intermediates of vitamin B₁ and the growth of *Torula*. Plant Physiol. **13**, 611 (1938).
- — (3) The specificity of pyrimidine for *Phycomyces blakesleeanus*. Proc. nat. Acad. Sci. U.S.A. **24**, 141 (1938).
- — (4) The specificity of thiazole for *Phycomyces blakesleeanus*. Proc. nat. Acad. Sci. U.S.A. **24**, 145 (1938).
- — (5) Evidence for a second thiamin. Proc. nat. Acad. Sci. U.S.A. **24**, 229 (1938).
- — (6) Vitamin B₁ or its intermediates and growth of certain fungi. Am. J. Bot. **25**, 229 (1938).
- — (7) Thiamin and growth of *Pythium Butleri*. Bull. Torrey bot. Club **65**, 453 (1938).
- RONSDORF, L.: Vergleichende Untersuchungen über die Wirkung verschiedener Wuchsstoffe auf das Wachstum einiger Pilze. Arch. Mikrobiol. **6**, 309 (1935).
- SCHAFFSTEIN, G.: Untersuchungen über die Avitaminose der Orchideenkeimlinge. J. Bot. **86**, 720 (1938).
- SAKURAI, K.: Vitamin B₁-Synthese der Mikroorganismen. I. Über die Schimmelpilze. J. Sci. Hirosima Univ., Ser. B, div. 2, **3**, 191 (1939).
- SCHUNERT, A. u. M. SCHIEBLICH: (1) Über Vitaminbildung durch *Aspergillus oryzae*. Biochem. Z. **286**, 66 (1936).
- — (2) Weitere Untersuchungen über den Vitamin B₁-Gehalt von Holzzuckerhefe, zugleich ein Beitrag zur Frage der Vitaminbildung durch Hefen. Tierernährung **9**, 173 (1937).
- SCHIEBLICH, M.: (1) Über den Einfluß der Zusammensetzung des Nährbodens auf die Vitamin B-Bildung durch Bakterien. Biochem. Z. **259**, 19 (1933).

- SCHIEBLICH, M.: (2) Vergleichende Untersuchungen über die Fähigkeit der Vitamin B-Bildung durch *Bac. vulgaris* (FLÜGGE) MIGULA und *Bac. mesentericus* (FLÜGGE) LEHM. et NEUM. *Biochem. Z.* **220**, 394 (1930).
- SCHLENK, F. u. H. v. EULER: Cozymase, in „Fortschritte der Chemie organischer Naturstoffe“, Bd. 1, S. 99. 1938.
- SCHMITZ, H.: Studies in the physiology of fungi. VI. The relation of Bacteria to cellulose fermentation induced by fungi, with special reference to the decay of wood. *Ann. Miss. bot. Garden* **6** (1919).
- SCHOPFER, W. H.: (1) Recherches expérimentales sur la formation des zygotes chez *Phycomyces blakesleeanus*. Influence des substances vitaminiques. *Bull. Soc. bot. suisse* **40**, 87 (1931); **41**, 73 (1932).
- (2) Recherches sur le facteur de croissance contenu dans le germe de blé. *Bull. Soc. bot. suisse* **41**, 335 (1932).
- (3) Sur la multiplicité des facteurs agissant sur les Mucorinées. *Bull. Soc. bot. suisse* **43**, 389 (1934).
- (4) Les vitamines cristallisées B comme hormones de croissance chez un microorganisme (*Phycomyces*). *Arch. Mikrobiol.* **5**, 513 (1934).
- (5) Sur le facteur de croissance du germe de blé. Son extraction par l'acétate de plomb. *Arch. Mikrobiol.* **5**, 502 (1934).
- (6) Versuche über die Wirkung der Wachstumsfaktoren auf einige Mucorinellen. *Ber. dtsh. bot. Ges.* **52**, 560 (1934).
- (7) Versuche über die Wirkung von reinen kristallisierten Vitaminen B auf *Phycomyces*. *Ber. dtsh. bot. Ges.* **52**, 308 (1934).
- (8) Recherches sur l'emploi possible d'un test végétal pour la vitamine B₁. Essai d'étalonnage. *Bull. Soc. Chim. biol. Paris* **17**, 1099 (1935).
- (9) Sur l'identification d'un caroténoïde de champignon. *C. r. Soc. Biol. Paris* **118**, 3 (1935).
- (10) Recherches sur l'utilisation des facteurs de croissance. La synthèse biologique des facteurs de croissance. *Arch. Mikrobiol.* **6**, 196 (1935).
- (11) Etude sur les facteurs de croissance. Action de la vitamine cristallisée B₁ et de l'extrait de germe de blé sur *Rhizopus* et d'autres Mucorinées. *Z. Vitaminforsch.* **4**, 187 (1935).
- (12) Der Gehalt an Wachstumsfaktoren der Sporen von *Phycomyces*. *Ber. dtsh. bot. Ges.* **53**, 466 (1935).
- (13) Vitamines et facteurs de croissance chez les plantes. Contribution à l'étude quantitative des conditions d'action des facteurs de croissance sur *Phycomyces*. *Arch. Mikrobiol.* **6**, 510 (1935).
- (14) Recherches sur l'action de divers extraits végétaux sur le développement de *Phycomyces*. *Arch. Mikrobiol.* **7**, 156 (1936).
- (15) Recherches sur l'absorption et l'éluion de la vitamine B₁. *C. r. Soc. phys. hist. nat. Genève* **53**, 1 (1936).
- (16) Le facteur M de Mucorinée est-il analogue à l'hormone de division cellulaire des méristèmes (ou à l'hormone réglant la production de matière de ces cellules)? *Protoplasma (Berl.)* **27**, 131 (1936).
- (17) Recherches sur l'action des produits animaux sur le développement d'un microorganisme (*Phycomyces*). L'action du lait. *Arch. Mikrobiol.* **8**, 231 (1937).
- (18) Recherches sur le métabolisme de l'azote d'un microorganisme acellulaire (*Phycomyces blakesleeanus*). Le rôle des facteurs de croissance. *Protoplasma (Berl.)* **28**, 381 (1937).
- (19) La spécificité d'action de l'aneurine sur *Phycomyces*. Le rôle des constituants de l'aneurine et de leurs produits de substitution. *Bull. Soc. bot. suisse* **47**, 460 (1937).

- SCHOPFER, W. H.: (20) L'action des constituants de l'aneurine sur les levures (*Rhodotorula rubra* et *flava*). C. r. Acad. Sci. Paris **205**, 445 (1937).
- (21) La forme de la plante. Quelques facteurs chimiques de sa genèse et de son déterminisme. Actes Soc. helv. Sci. nat. Genève, 118^e Session, p. 62. 1937.
- (22) La pyrimidine(2-méthyl-4-amino-5-aminométhyl-pyrimidine) facteur de croissance de microorganismes (*Rhodotorula*, *Mucorinées*, *Dematium*). Protoplasma (Berl.) **31**, 105 (1938).
- (23) Aneurine et hétérotrophie chez les microorganismes. Arch. Mikrobiol. **9**, 116 (1938).
- (24) La spécificité d'action de l'aneurine sur quelques microorganismes. Action d'un homologue de l'aneurine. C.R. 1^{er} Congrès des microbiologistes de langue française Paris 1938, p. 28.
- (25) Symbiose et facteurs de croissance. C. R. 1^{er} Congrès des microbiologistes de langue française Paris 1938, p. 26.
- et A. JUNG: (1) Recherches sur l'action des extraits d'*Aspergillus* sur le développement de *Phycomyces*. Arch. Mikrobiol. **6**, 334 (1935).
- — (2) Recherches sur l'activité vitaminique A du thalle d'une Mucorinée. C. r. Soc. Biol. Paris **120**, 1093 (1935).
- (3) Recherches sur la synthèse de la vitamine B₁ par *Phycomyces*. Arch. Mikrobiol. **6**, 345 (1935).
- — (4) Détermination de la teneur en vitamine B₁ d'un extrait de germe de blé. C. r. Soc. Biol. Paris **122**, 249 (1936).
- — (5) Recherches sur l'activité des produits d'oxydation de la vitamine B₁. Arch. Mikrobiol. **7**, 571 (1936).
- — (6) L'action des produits de désintégration de l'aneurine sur *Phycomyces*. Le second facteur de croissance de Mucorinées. C. r. Acad. Sci. Paris **204**, 1500 (1937).
- — (7) Un test végétal pour l'aneurine. Méthode, critique et résultats. 5^{ème} Congr. intern. techn. et chim. des industries agricoles, Scheveningue 1937, p. 22.
- et S. BLUMER: (1) Les facteurs de croissance du genre *Ustilago*. C. r. Acad. Sci. Paris **206**, 1141 (1938).
- — unter Mitwirkung von V. KOCHER: (2) Untersuchungen über die Biologie von *Ustilago violacea*. II. Wirkung des Aneurins und anderer Wuchsstoffe vitaminischer Natur. Arch. Mikrobiol. **9**, 305 (1938).
- et W. MOSER: Recherches sur la concentration et la séparation des facteurs de croissance de microorganismes contenu dans le germe de blé. Protoplasma (Berl.) **26**, 538 (1936).
- et W. F. MÜLLER: Recherches sur la décomposition thermique de l'aneurine. C. r. Soc. Biol. Paris **128**, 372 (1938).
- et W. RYTZ jr.: La ouaté comme source de facteur de croissance de microorganisme. Arch. Mikrobiol. **8**, 244 (1937).
- SCHULTZ, A. S., L. ATKIN and C. H. FREY: (1) A fermentation test for vitamin B. II. J. amer. chem. Soc. **59**, 2457 (1937).
- — (2) Thiamine, pyrimidine, and thiazole as bios factors. J. amer. chem. Soc. **60**, 490 (1938).
- SCHWARTZ, W.: Untersuchungen über die Symbiose von Tieren mit Pilzen und Bakterien. Arch. Mikrobiol. **3**, 453 (1932).
- SERGEANT, A. L.: Les facteurs de croissance des microbes sur milieux artificiels. Paris: Gaston Doin 1928.
- SINCLAIR, H. M.: Growth factors for *Phycomyces*. Nature (Lond.) **140**, 360 (1937).

- SNELL, E. C., E. L. TATUM and W. H. PETERSON: Growth factors for Bacteria. III. Some nutritive requirements of *Lactobacillus Delbrückii*. *J. Bacter.* **33**, 207 (1937).
- SNELL, E. E. and F. M. STRONG: The influence of riboflavin and certain synthetic flavins on the growth of lactic acid Bacteria. *J. of biol. Chem.* **123**. — *Proc. Amer. Soc. biol. chem.* **1938**, s. CXII.
- SOUZA, G. DE P. et E. V. MACCOLLUM: A study of the factors which interfere with the use of yeast as a test organism for the antineuritic substance. *J. of biol. Chem.* **40**, 113 (1923).
- STANLEY, W. M.: Isolation and properties of virus proteins. *Erg. Physiol.* **39**, 294 (1937).
- STEINBERG, R. A.: Relation of accessory growth substances to heavy metals, including molybdenum, in the nutrition of *Aspergillus niger*. *J. agricult. Res.* **52**, 439 (1936).
- STERN, K. G. and J. W. HOFER: Synthesis of Co-carboxylase from Vitamin B₁. *Enzymologia (Haag)* **3**, 82 (1937).
- SUNDERLIN, F. and C. H. WERKMAN: Synthesis of vitamin B by microorganisms. *J. Bacter.* **16**, 17 (1928).
- SUZUKI, T. SHIMAMURA u. S. ODAKE: Über Oryzanin, ein Bestandteil der Reiskleie und seine physiologische Bedeutung. *Biochem. Z.* **43**, 89 (1912).
- TATUM, E. L., H. G. WOOD and W. H. PETERSON: V. Vitamin B₁, a growth stimulant for propionic acid bacteria. *Biochemic. J.* **30**, 1898 (1936).
- TAUBER, H.: Co-carboxylase (Vitamin B₁-Pyrophosphate) content of plants. *Proc. Soc. exper. Biol. a. Med.* **37**, 541 (1937).
- TCHANG JOUÉ, L. et Mme. P. CHAIX: Sur les propriétés physiologiques (comportement en vitamine A) des pigments de *Rhodotorula samnii*. *Bull. Soc. Chim. biol. Paris* **20**, 1175 (1938).
- TEINDL-CZECH, L.: Über die Generationsdauer der Hefe in Abhängigkeit von Strahlenwirkungen. *Protoplasma (Berl.)* **28**, 313 (1937).
- THIMANN, K. V.: On the plant growth hormone produced by *Rhizopus suinus*. *J. of biol. Chem.* **109**, 279 (1935).
- THJÖTTA, TH.: (1) Studies on bacterial nutrition. I. Growth of *Bacillus influenzae* in hemoglobin-free media. *J. of exper. Med.* **33**, 763 (1921). — (2) On the nature of heat-labile substance (V) required for the growth of the bacillus of PFEIFFER. *J. of exper. Med.* **40**, 670 (1924). — and O. T. AVERY: (1) Growth accessory substances in the cultivation of hemophilic bacilli. *J. of exper. Med.* **34**, 97 (1921). — — (2) Plant tissue as a source of growth accessory substances in the cultivation of *Bacillus influenzae*. *J. of exper. Med.* **34**, 455 (1921).
- THORNE, D. W., O. R. NEAL and R. H. WALKER: Physiological studies on *Rhizobium*. VIII. The respiratory quotient. *Arch. Mikrobiol.* **7**, 477 (1936). — and R. H. WALKER: (1) A growth factor for *Rhizobia*. *J. Bacter.* **30**, 331 (1935). — — (2) Physiological studies on *Rhizobium*: VI. Accessory factors. *Soil Sci.* **42**, 231 (1936).
- THREN, R.: Gewinnung und Kultur von monokaryotischem und dikaryotischem Myzel. Ein Beitrag zur Physiologie und Genetik des Gerstenflugbrandes [*Ustilago nuda* (JENS.) KELLERM. et SW.]. *Z. Bot.* **31**, 337 (1937).
- TINCKER, M. A. H. and S. E. JACOBS: Experiments with follicular and other hormones and plant growth. With an appendix on *Bact. auxinophilum*. *Ann. of appl. Biol.* **22**, 619 (1935). — *Ref. Ber. Biol.* **36**, 561 (1936).

- TODD, A. R. and F. BERGEL: Aneurin. Part VII. A synthesis of aneurin. J. chem. Soc. Lond. **1937**, 364.
- TWORT, F. W. and G. L. Y. INGRAM: A monograph on JOHNE'S disease (Enteritis chronica pseudotuberculosis bovis). London: Baillière, Tyndall & Co. 1913.
- VALENTINE, F. C. O. and T. M. RIVERS: Further observations concerning growth requirements of hemophilic bacilli. J. of exper. Med. **45**, 993 (1927).
- VOLKONSKY, M.: Sur la nutrition de quelques champignons saprophytes et parasites. Ann. Inst. Pasteur **52**, 76 (1934).
- WAGTENDONK, W. J. VAN: Een onderzoek naar de groiefactoren van *Staphylococcus aureus*. Diss. Utrecht 1937.
- WARBURG, O. u. W. CHRISTIAN: Über das gelbe Ferment und seine Wirkungen. Biochem. Z. **226**, 377 (1933).
- — u. A. GRIESE: Wasserstoffübertragendes Co-Ferment, seine Zusammensetzung und Wirkungsweise. Biochem. Z. **282**, 157 (1935).
- WASSINK, E. C.: Begrenzende Bedingungen bei der Atmung von *Phycomyces*. Diss. Utrecht. Rec. Trav. bot. néerl. **31**, 583 (1934).
- WEBER, A. P.: (1) L'influence des hormones cristallisées sur la croissance de certaines espèces de levures. Leeuwenhoek **4**, 79 (1937). Ref. Ber. Biol. **44**, 345 (1937).
- (2) De l'influence des hormones cristallisées sur la croissance de quelques espèces de levures. C. r. Acad. Sci. Paris **202**, 527 (1936).
- WENT, F. W. and K. V. THIMANN: Phytohormones. New-York: MacMillan 1937.
- WERNER, A. R.: The biological activators of *Azotobacter*. C. r. Acad. Sci. URSS. **4** (9), 57 (1935). Ref. Bot. Zbl. **28**, 10 (1936).
- WEST, P. M. and P. W. WILSON: (1) Biological determination of vitamin B₁ (thiamin) in *Rhizobium trifolii*. Science (N.Y.) **88**, 334 (1938).
- — (2) Synthesis of growth factors by *Rhizobium trifolii*. Nature (Lond.) **142** (1938).
- WILDIERS, E.: Une nouvelle substance indispensable au développement de la levure. Cellule **18**, 313 (1901).
- WILLAMAN, J. and A. G. OLSEN: The bios requirement of bakers yeast. J. of biol. Chem. **55**, 815 (1923).
- WILLIAMS, R. J.: (1) The vitamin requirement of yeast. A simple biological test for vitamin. J. of biol. Chem. **38**, 465 (1919).
- (2) A quantitative method for determination of vitamine. J. of biol. Chem. **42**, 259 (1920).
- C. M. LYMAN, G. H. GOODYEAR, J. H. TRUSDAIL and D. HOLIDAY: "Pantothenic acid", a growth determinant of universal biological occurrence. J. amer. chem. Soc. **55**, 2912 (1933).
- and R. MOSER: The approximative ionisation constant of pantothenic acid as determination by fractional electrolysis. J. amer. chem. Soc. **56**, 169 (1933).
- and R. R. ROEHM: The effect of antineuritic vitamin preparation on the growth of yeast. J. of biol. Chem. **87**, 581 (1930).
- and E. ROHRMAN: β -Alanine and bios. J. amer. chem. Soc. **58**, 695 (1936).
- and D. H. SAUNDERS: The effect of inositol, crystalline vitamin B₁ and pantothenic acid on the growth of different strains of yeast. Biochem. J. **28**, 1887 (1934).

- WILLIAMS, R. J., J. H. TRUESDAIL, H. H. WEINSTOCK jr., E. ROHRMAN, C. M. LYMAN and C. H. MCBURNEY: Pantothenic acid. II. Its concentration and purification from liver. *J. amer. chem. Soc.* **60**, 2719 (1938).
- H. H. WEINSTOCK jr., E. ROHRMAN, J. H. TRUESDAIL, H. K. MITCHELL and C. E. MEYER: Pantothenic acid III. Analysis and determination of constituent group. *J. amer. chem. Soc.* **61**, 454 (1939).
- WILLIAMS, R. R.: Structure of vitamin B₁. *J. amer. chem. Soc.* **57**, 229 (1935).
- and J. K. CLINE: Synthetic vitamin B₁. *J. amer. chem. Soc.* **59**, 216 (1937).
- and T. D. SPIES: Vitamin B₁ (Thiamin) and its use in Medicine. New-York: The Macmillan Comp. 1938.
- R. E. WATERMAN, J. C. KERESZTESY and E. R. BUCHMAN: Studies of crystalline vitamin B₁. III. Cleavage of vitamin with sulfite. *J. amer. chem. Soc.* **57**, 536 (1935).
- WINDAUS, A., R. TSCHESCHE, H. RUHKOPF, F. LAQUER u. F. SCHULTZ: Die Darstellung von kristallisiertem antineuritischen Vitamin aus Hefe. *Hoppe-Seylers Z.* **204**, 123 (1932).
- WINTERSTEIN, A. u. C. FUNK: Vitamine. *G. Kleins Handbuch der Pflanzenanalyse*, Bd. IV/2. Spezielle Analyse III. 1933.
- WOOD, H. G., A. A. ANDERSEN and C. H. WERKMAN: Nutrition of the propionic acid bacteria. *J. Bacter.* **36**, 201 (1938).
- E. L. TATUM and W. H. PETERSON: Growth factors for Bacteria. IV. An acidic ether-soluble factor essential for growth of propionic acid bacteria. *J. Bacter.* **33**, 227 (1937).
- WORLEY, CLAIR L. and B. M. DUGGAR: *Colletotrichum circinans* as a semi-quantitative test unit for the growth substance produced by *Rhizopus sinuatus*. *Science (N.Y.)* **88**, 132 (1938).
- ZYCHA, H.: Kryptogamenflora der Mark Brandenburg. Pilze. II. *Mucorineae*. Berlin: Gebrüder Bornträger 1935.

Der Sauerstoff als ökologischer Faktor.

Von JOACHIM FRHR. VON LEDEBUR, Neustadt im Schwarzwald.

Mit 7 Abbildungen.

Inhaltsübersicht.

	Seite
Einleitung	173
I. Der Sauerstoffgehalt der verschiedenen Lebensräume	175
a) Atmungsmedium Luft	175
b) Atmungsmedium Wasser	177
1. Allgemeines	177
2. Süßwasser	179
3. Salzwasser	185
Problem der Atmung in Süß- und Salzwasser	186
4. Besondere Biotope (Schlamm, Darminneres, heiße Quellen, Eis)	189
II. Die Bedeutung des Sauerstoffes für die lebenden Organismen	190
a) Lebensprozesse ohne Sauerstoff	190
b) Wirkung eines zu hohen Sauerstoffdruckes	192
c) Anpassungsarten (aktive und passive Anpassungen; eury- und stenoxymbionte Organismen)	194
III. Einfluß des Sauerstoffgehaltes auf das Verhalten der Organismen	197
a) Oxygenotaxis	197
b) Tierwanderungen	201
c) Atmungsregulation	202
d) „Notatmung“	211
e) Einfluß auf den Kreislauf	215
IV. Zusammenhänge zwischen den Atmungsverhältnissen der Umgebung und anatomisch nachweisbaren Umwandlungen und Neubildungen von Organen	216
a) Luftatmungsorgane der Fische	216
b) Problem der Luft- und Wasseratmung	218
c) Luftatmungsorgane anderer Wassertiere	221
d) Anpassungen von Luftatmern an das Wasserleben	222
e) Einfluß des Sauerstoffgehaltes auf die Größe und den Aufbau der Atmungsorgane	224
f) Zusammenhänge zwischen dem Auftreten und den Eigenschaften der Blutfarbstoffe und den Atmungsverhältnissen der Umwelt	227
V. Einfluß des Sauerstoffdruckes auf den Sauerstoffverbrauch	237
Schluß	241
Literatur	243

Einleitung.

Zur Aufrechterhaltung ihrer Lebensvorgänge muß von den Organismen dauernd Energie aufgewandt werden. Diese kann von den tierischen Lebewesen auf zweierlei Art gewonnen werden: einmal durch Verbrennungsprozesse, wobei organische Substanzen mit Hilfe von Sauerstoff

(O₂) oxydiert werden, oder durch Spaltungsprozesse, in denen diese hochmolekularen organischen Stoffe, ohne daß O₂ dazu nötig ist, in kleinere Moleküle aufgespalten werden. Dabei wird ebenfalls, wenn auch in viel geringerem Maße, Energie frei. Man kann so zwischen oxydativen und anoxydativen Lebensprozessen oder zwischen oxybiontischer und anoxybiontischer Lebensweise unterscheiden. Die Fähigkeit, auf oxydativem oder anoxydativem Wege die nötige Energie zu gewinnen, ist nun bei den einzelnen Organismen sehr verschieden entwickelt. Man kann jedoch ganz allgemein sagen, daß die Mehrzahl der Organismen auf die Aufnahme von O₂ aus der Umwelt zum mindesten für längere Zeit angewiesen ist. Der O₂ wird so zu einem für die meisten Organismen lebensnotwendigen Stoff, dessen genügende Zufuhr unbedingt gewährleistet sein muß. Wie wir nun später noch im einzelnen sehen werden, kann der O₂-Gehalt der verschiedenen, von Organismen bewohnten Lebensräume (Biotope) ein außerordentlich wechselnder sein. Den einzelnen Lebewesen steht also eine sehr verschieden große und oft auch stark wechselnde Menge des unter Umständen lebensnotwendigen O₂ zur Verfügung. Es mag schon hier darauf hingewiesen sein, daß die den O₂ benötigenden Organismen ja nicht nur dort vorkommen, wo dieser in großer Menge vorhanden ist, sondern auch dort, wo O₂ nur in beschränktem Maße verfügbar ist, dafür aber irgendwelche anderen günstigen Lebensbedingungen herrschen, wie sie z. B. der nahrungsreiche Schlamm bietet. Im folgenden soll nach einem kurzen Eingehen auf die O₂-Verhältnisse in den verschiedenen Lebensräumen und auf das O₂-Bedürfnis, d. h. die mehr oder weniger große Notwendigkeit oxydativer Prozesse bei den einzelnen Organismen, dargestellt werden, auf welche Weise nun die zu beobachtende harmonische und vollkommene Einpassung der einzelnen Lebewesen in die verschiedensten, oft eng umgrenzten O₂-Verhältnisse der Umgebung zustande kommt. Wie bei allen Lebensvorgängen handelt es sich auch hier um keine starre, sondern um eine plastische Einpassung, Änderungen der Milieufaktoren werden durch die mehr oder weniger große Anpassungsfähigkeit der Organismen kompensiert. Es wird daher das zu dieser Einpassung notwendigerweise vorhandene Gleichgewicht zwischen den drei Faktoren: O₂-Darbietung, O₂-Bedürfnis und O₂-Aufnahmefähigkeit (KRAWANY 1935) betrachtet werden müssen. Dabei werden weniger die einzelnen Atmungsorgane, die mehr oder weniger als bekannt vorausgesetzt werden müssen¹, zu besprechen sein als vielmehr der Einfluß des O₂ auf das Verhalten der Organismen und die durch Änderungen des O₂-Gehaltes hervorgerufenen funktionellen und anatomischen Veränderungen, die schließlich zu einem Verständnis dieser Einpassungen führen können (s. auch CUÉNOT 1925, PEARSE 1926).

¹ S. besonders für die ältere Literatur: Handbuch der vergleichenden Physiologie, Bd. 1, 2. Hälfte. 1921 (herausgeg. von H. WINTERSTEIN), ferner v. BUDDENBROCK 1924, JORDAN 1926.

I. Der Sauerstoffgehalt der verschiedenen Lebensräume.

a) Atmungsmedium Luft.

Die in den verschiedenen Umwelten den einzelnen Organismen zur Verfügung stehenden O_2 -Mengen sind, wie schon erwähnt, recht unterschiedlich. Der O_2 -Gehalt der Biotope mit *Luft als Atmungsmedium* beträgt mit wenigen Ausnahmen 20,94%; er ist, was einen besonders großen Vorteil für die Atmungsvorgänge darstellt, wegen der leicht möglichen Mischung durch die dauernden, meist thermisch bedingten Luftströmungen kaum Schwankungen ausgesetzt. Wegen dieser geringen Wahrscheinlichkeit des Auftretens eines zu geringen O_2 -Gehaltes in den Luftbiotopen wird es verständlich, daß als regulierender Atemreiz bei Landtieren meist nicht der O_2 , sondern die Kohlensäure (CO_2) benutzt wird (JORDAN und GUITTART 1938¹, s. auch unten).

Nur beim Fehlen der Durchmischungen, z. B. in engen Höhlen usw. kann bei gleichzeitigem starkem O_2 -Verbrauch ein Absinken des O_2 -Gehaltes eintreten, da die so sehr viel langsameren Diffusionsprozesse dann nicht mehr ausreichen. Auch infolge Verdrängung der O_2 -haltigen Luft durch andere Gase, z. B. aus der Erde austretende CO_2 , kann in solchen Höhlen ein O_2 -Mangel auftreten (Hundsgrotte bei Neapel).

Im trockenen oder nicht allzu stark durchfeuchteten Erdboden, besonders wenn er locker und porös ist und von zahlreichen, bis zu einigen Metern in die Tiefe reichenden Regenwurmgingen durchsetzt wird, ist der O_2 -Gehalt der reichlich vorhandenen Bodenluft infolge der dann noch ausreichenden Durchmischung erstaunlich hoch. In 6 m Tiefe wurden noch 16,7–13,6% O_2 beobachtet (PETTENKOFER 1871). Auch durch das Einsickern des luftgesättigten Regens werden größere O_2 -Mengen dem Erdboden zugeführt. Ganz anders werden die O_2 -Verhältnisse jedoch, wenn die Erde wasserdurchtränkt bleibt und die leicht bewegliche Luft durch Wasser ersetzt wird. Es kommt dann ebenso wie im Schlamm (s. unten), schon in geringer Tiefe zu einem beträchtlichen O_2 -Mangel, und zwar um so rascher, je größer der Humusgehalt des Bodens, die Verwesung in ihm ist. Eine Humusschicht von 10 cm Dicke entzieht langsam durchfließendem Wasser bis zu 36% seines O_2 -Gehaltes (LUNDEGÅRDH 1924, MERKER 1931).

Eine dieser Ausnahmen der Luftbiotope, in der trotz guter Durchmischung schlechtere physikalische Bedingungen für eine O_2 -Aufnahme bestehen, stellt nun die Höhe dar. Bei der O_2 -Aufnahme der Organismen handelt es sich, wie jetzt wohl allgemein angenommen wird, um Diffusionsprozesse, deren Größe von dem Unterschied des O_2 -Druckes zwischen Umwelt und dem Inneren des Organismus abhängig ist. Dieser Teildruck des O_2 wird bekanntlich mit zunehmender Höhe (d. h. Entfernung vom Meeresniveau) entsprechend der Abnahme des

¹ Wegen der sehr großen Anzahl von Arbeiten und Beobachtungen konnten im folgenden immer nur einige Beispiele herausgegriffen werden. Auch die Literaturangaben beschränken sich daher in der Regel nur auf neuere oder zusammenfassende Arbeiten, in denen die gesamte Literatur des betreffenden Spezialgebietes leicht eingesehen werden kann.

atmosphärischen Druckes immer geringer (bei gleichbleibender prozentualer Zusammensetzung der Luft!). In 6000 m Höhe beträgt er noch ungefähr die Hälfte, auf dem Mount Everest (8875 m) noch etwa ein Drittel des Wertes im Meeresniveau.

Derartig große Abweichungen von den normalen physikalischen Verhältnissen der O₂-Versorgung werden natürlich ihren Einfluß auf die in solchen Höhen lebenden Organismen haben und Anpassungserscheinungen verursachen, obwohl gerade die in der Luft lebenden Organismen nicht so leicht durch eine Abnahme des O₂-Gehaltes der Einatmungsluft beeinflusst werden (HALL 1937). Diese Verminderung des O₂-Druckes in großer Höhe ist wohl für die Organismen die bei weitem wichtigste Umweltänderung; sie stellt bei allen Tieren schließlich den begrenzenden Faktor für den Aufstieg in noch größere Höhen dar. Die anderen Unterschiede gegenüber dem Flachlande, wie Luftionisation, starke Ultraviolettstrahlung, Temperaturabnahme usw., haben keinen so großen Einfluß. Die zahlreichen Anpassungsvorgänge an die Höhe, die besonders beim Menschen und bei Säugetieren untersucht sind (KEYS 1938), haben fast alle den Sinn, trotz des verminderten Druckes die normalen Lebensfunktionen aufrechtzuerhalten.

Entsprechend dem mehr oder weniger großen Anpassungsvermögen an verschiedene Höhenlagen unterscheidet HALL (1937) zwischen „*eurybarischen*“ und „*stenobarischen*“ Organismen. Die letzteren sind dabei nicht befähigt, größere Höhenunterschiede zu überdauern bzw. sich ihnen rechtzeitig anzupassen (z. B. Schafe, Kaninchen, Katzen usw.); zu den ersteren gehören Tiere wie Lamas, Vikuñas, Hunde usw., die zum Überwinden weiter Höhenlagen befähigt sind. Auch Maulesel können noch in etwa 500—1000 m größerer Höhe ständig gebraucht werden als Pferde (KEYS 1938). Die höchste, dauernd bewohnte menschliche Siedlung scheint Quilcha (Chile) in 5340 m Höhe zu sein. Es ist bezeichnend, daß die Arbeitsstätte (Bergwerksmine) der Bewohner dieses Ortes noch etwa 500 m höher liegt, daß es aber trotz mehrfacher Versuche nicht möglich war, den dauernden Wohnsitz dieser Arbeiter in die Höhe des Bergwerkes zu verlegen. Für kürzere Zeit sind auch noch größere Höhen für den Menschen erträglich. Eine feste äußerste Höhengrenze für den Menschen anzugeben, ist schwierig, da sie von der Größe der Akklimatisation, der Dauer des Aufenthaltes und der Größe der körperlichen Beanspruchung weitgehend abhängt. Durch Höhenttraining ist eine Anpassung an 7—8000 m für Höhenflieger noch möglich (BENZINGER 1938).

Als Folge des geringen Luftdruckes ist die Luft in der Höhe noch verdünnt, d. h. in einem Liter ist entsprechend der Druckabnahme weniger O₂ vorhanden als in der Tiefebene; ein Liter Luft in der Ebene entspricht 1,42 Liter Luft in der Stadt Mexiko (2240 m). Um dieselbe O₂-Menge in der Zeiteinheit zu den Atmungsflächen hinzubefördern, muß daher in der Höhe das Atemminutenvolumen entsprechend erhöht sein (IZQUIERDO 1927).

Von DURST (1937) ist wohl zuerst darauf hingewiesen worden, daß dieselben Bedingungen, verringerter O₂-Gehalt in der Volumeinheit des Einatmungsgases, auch bei erhöhter Temperatur, also z. B. im heißen Klima

vorliegen. Nach ihm haben diese Unterschiede im O_2 -Gehalt der Atemluft eine formbildende Wirkung: Anpassungserscheinungen sind bei diesen Tieren (Rindern) und beim Menschen die Folge. So werden von ihm regionale Konstitutionstypen aufgestellt: der *Atmungstyp* (in Gebieten mit relativ geringem O_2 -Gehalt) mit Verlängerung und Ausdehnung des Thoraxraumes usw. und der *Verdauungstyp* (in Gebieten mit relativ hohem O_2 -Gehalt) mit Verkleinerung der Lungenaustauschfläche und Verkürzung des Thorax.

b) Atmungsmedium Wasser.

1. Allgemeines.

Ganz anders liegen die Verhältnisse jedoch in Biotopen, deren *Atmungsmedium Wasser* ist (BIRGE und JUDAY 1911/14, HUBAULT 1927, THIENEMANN 1928c, GROTE 1934). Zwar ist, jedenfalls im luftgesättigten Wasser, der O_2 -Druck der gleiche wie in der Luft, und auch bei den luftatmenden Organismen muß der O_2 immer erst durch eine allerdings sehr dünne Flüssigkeitsschicht des betreffenden Atmungsorganes hindurchgehen. Es liegen also in dieser Beziehung dieselben Verhältnisse bei der Luft- und der Wasseratmung vor (s. unten). Aber auch unter den günstigsten Bedingungen, bei völliger Luftsättigung, stellt das Wasser insofern ein schlechteres Atmungsmedium dar als die Luft, als es infolge des sehr viel geringeren Gehaltes an O_2 — in einem Liter Luft sind 209 ccm O_2 , in einem Liter Wasser jedoch nur etwa $\frac{1}{36}$ davon enthalten¹ — bei gleichem O_2 -Verbrauch schneller an O_2 verarmt. Eine Verteilung des O_2 auf dem Diffusionswege findet nur ganz außerordentlich langsam statt (etwa 45 000 mal langsamer als in Luft)², und da im Wasser ferner wegen der im Verhältnis zur Luft geringeren Beweglichkeit desselben Strömungen und dadurch bedingte Durchmischungen nicht immer in nötigem Maße vorhanden sind, so ist hier, und zwar gar nicht einmal so selten, die Möglichkeit für das Vorkommen von Lebensräumen mit dem verschiedensten O_2 -Gehalt gegeben.

Da an und für sich nur wenig O_2 im Wasser vorhanden ist, kann dabei der O_2 -Gehalt sehr leicht auf für das Leben kritische Werte absinken.

Aus diesen Gründen ist es nach JORDAN (1926) verständlich, daß bei allen Wassertieren auch in der Ruhe Vorrichtungen zur Bewegung des Atmungsmediums vorhanden und tätig sind, nicht aber bei einer großen Anzahl von Luft atmenden Tieren (z. B. Landpulmonaten, Landisopoden, Spinnen mit Fächerlungen), bei denen, sicher wenn sie klein genug sind, die Gasdiffusion ausreicht (KROGH 1920, s. dagegen HEBERDEY 1938). Als weitere Beispiele seien die Buchlungen der Skorpione erwähnt, die zur ausreichenden Erfüllung ihrer Atmungsfunktion keine Ventilationsbewegungen benötigen, während bei den im Wasser lebenden Arachnoideen (*Limulus*)

¹ Bei 0° 10,29 ccm, bei 4° 9 ccm, bei 10° 7,87 ccm, bei 20° 6,36 ccm, bei 30° 5,26 ccm O_2 (LANDOLT-BÖRNSTEIN).

² Wenn bei einem O_2 -Gehalt des freien Wassers von 7,2 ccm pro Liter an der Kontaktfläche Luft-Wasser ein O_2 -Gehalt von 9,2 ccm pro Liter vorhanden ist, dann steigt der O_2 -Gehalt in 10 m Tiefe, wenn nur Diffusionsprozesse stattfinden können, in 638 Jahren auf 7,7 ccm pro Liter, in 8930 Jahren auf 8,7 ccm pro Liter (ALSTERBERG 1922).

die Funktion der sehr ähnlich gebauten Buchkiemen von einem hochentwickelten Ventilationsmechanismus abhängt (ZOOND 1931). Auch bei der amphibisch lebenden Krabbe *Potamonautes perlatus* kann die Kiemenkammer als Lunge ohne wahrnehmbare Atembewegungen funktionieren, während im Wasser ein Mediumwechsel durch die Skaphognathitbewegungen nötig ist (HOGBEN und ZOOND 1930, ZOOND und CHARLES 1931, HARMS 1932). — Beim Übergang zum Landleben findet z. B. bei den Turbellarien eine Reduktion der ektodermalen Zilien, die im Wasser zur Erzeugung eines Atemwasserstromes dienen, statt (CARTER 1931).

In das Wasser gelangen kann der O_2 einmal durch Lösung (Absorption) an der Grenzfläche Luft-Wasser, wobei die gelöste Menge O_2 neben anderem (s. unten) von der Größe dieser Grenzfläche abhängig ist. So wird die Lösung der Luft in flachen, aber dafür weit ausgedehnten Wasseransammlungen, durch Wellen, Wasserfälle und dergleichen stark begünstigt sein (s. auch THIENEMANN 1912/13). Der Gasdurchtritt selbst durch die Grenzfläche Luft-Wasser stellt auch bei noch so schnellem An- und Abtransport des Wassers zu und von der Kontaktfläche durch Strömungen usw. keinen begrenzenden Faktor für die O_2 -Aufnahme mehr dar (GROTE 1934).

Die Frage, wie der O_2 in die tieferen Wasserschichten gelangt, wird von HALBFASS (1931) ausführlich behandelt (s. auch GROTE). Die Diffusionsvorgänge scheiden wegen ihrer Langsamkeit praktisch aus. Eine gewisse O_2 -Menge wird der Seentiefe durch das in der Regel O_2 -reiche, kalte und salzreichere (und daher schwerere) Wasser der Zuflüsse zugeführt. Die sichtbaren Oberflächenwellen reichen in der Regel nur wenige Meter tief, führen dort aber, besonders nach starken Winden, zu einer erheblichen Steigerung des O_2 -Gehaltes (WILLER 1929). Eine sehr viel tiefer gehende Durchmischung wird in den meisten Binnenseen durch thermische Konvektion (infolge der temperaturabhängigen Schwere des Wassers) besonders im Frühjahr und Herbst bewirkt (s. unten). In vielen Seen spielen jedoch die durch den Wind bewirkten *Strömungen* die Hauptrolle, so besonders die durch einen schräg auf die Wasserfläche auffallenden Wind hervorgerufenen Wasserbewegungen, bei denen das an einer Stelle hinabgedrückte und seitwärts bewegte Wasser an anderer Stelle wieder an die Oberfläche gelangt (Schaukelbewegung). Ferner kann es, meist infolge von Luftdruckänderungen auf der Seefläche, zu periodischem Hin- und Herströmen der gesamten Wassermasse des Sees („Seiches-Bewegung“) kommen, die hauptsächlich in tieferen Schichten neben anderen, verschiedenartigen Strömungen zu einer Durchmischung führen kann.

Außerdem jedoch kann im Wasser selbst durch die Photosynthese grüner Pflanzen (BREHM und RUTTNER 1926), besonders auch des Phytoplanktons (Literatur bei HUBAULT 1927), O_2 gebildet werden, und zwar unter Umständen beträchtlich mehr als durch Absorption in das Wasser hineingelangt [so besonders in eutrophen Seen (MINDER 1923)]. — Der O_2 -Gehalt von Wasserschichten einige Meter unter der Oberfläche kann daher unter Umständen höher sein als direkt an der Grenzfläche Wasser-Luft (s. Abb. 1 b), an der bei O_2 -Übersättigung des Wassers, besonders auch bei durch Wind bewegter Oberfläche, sogar noch O_2 an die Luft abgegeben werden kann (PIÉRON 1908, BIRGE und JUDAY 1911). — Selbst durch die Photosynthese der in den Geweben sehr vieler Korallen symbiontisch lebenden Zooxanthellen kann das Wasser in der Nähe von Korallenriffen oder in Tümpeln auf diesen sehr stark (bis zu 278%) mit O_2 angereichert werden (ORR 1933, STEPHENSON, ZOOND und EYRE 1934). Nach GROTE (1934) darf ferner die Rolle der Cyanophyceen als O_2 -Quelle in der Tiefe, besonders auch in eutrophen Seen, nicht unterschätzt werden. Siehe auch die O_2 -Anreicherung an der Oberfläche stark verschmutzter Gewässer durch die

Massenentwicklung der Flagellaten *Pandorina* und *Eudorina* (LIEBMANN 1938).

Verbraucht wird der O_2 durch der Atmung der Tiere und der Pflanzen, durch Fäulnisprozesse organischer Substanz, vornehmlich in der Tiefe mancher Gewässer (Faulschlamm), und durch eventuell ablaufende abiogene chemische Prozesse (z. B. Zersetzung von Humusstoffen). Nach KUSNETZOW und KARSINKIN (1934) kann schließlich das Auftreten von O_2 -Minimumzonen in Seen während der Stagnationsperiode (in der Temperatursprungschicht [s. unten] und dicht über dem Grunde) auch auf die geschichtete Ansammlung von Bakterien (bis zu 6000 000 pro Kubikzentimeter!) zurückgeführt werden.

Zur Kennzeichnung der O_2 -Verhältnisse im Wasser wird entweder der O_2 -Gehalt in Kubikzentimeter oder in Gramm pro Liter Wasser (1 ccm O_2 bei 0° und 760 mm Hg Druck = 1,429 mg) angegeben, wozu wegen der Temperaturabhängigkeit der Sauerstofflöslichkeit auch die Angabe der betreffenden Wassertemperatur erforderlich ist. Es kann daraus unter Bezugnahme auf die O_2 -Menge, die bei Luftsättigung in dem Wasser bei der betreffenden Temperatur und normalem Barometerdruck gelöst sein kann, der *prozentuale Luftsättigungswert* bzw. das sog. *O_2 -Defizit* berechnet werden, woraus sich ohne weiteres der O_2 -Druck, auf den es bei der Atmung ankommt, ergibt. Von HUTCHINSON (1938) ist schließlich noch der Begriff des „*absoluten O_2 -Defizits*“ eingeführt worden, das sich aus dem Defizit an gelöstem O_2 (im Vergleich zum luftgesättigten Wasser der betreffenden Temperatur) und dem O_2 -Äquivalent von in dem betreffenden Wasser gelösten, anaerob entstandenen, reduzierenden Stoffen zusammensetzt. Es muß in diesem Zusammenhange schließlich noch auf die bekannte physikalische Tatsache hingewiesen werden, was selbst in neueren Arbeiten nicht immer berücksichtigt wird, daß die Größe des Wasserdruckes, also die Tiefe des betreffenden Wassers, ohne jeden Einfluß auf die Größe des Gasdruckes und die Menge der im Wasser gelösten Gase ist.

Je nach der Größe dieser verschiedenen Vorgänge und der Größe der Durchmischung entstehen die in bezug auf ihren O_2 -Gehalt so verschiedenen Biotope in den einzelnen Gewässern.

2. Süßwasser.

Ein hoher O_2 -Gehalt ist, wie schon erwähnt, in stark bewegtem, fließendem, flachem Wasser vorhanden, also z. B. in Gebirgsbächen, bei Wasserfällen, Wehren, Stromschnellen usw. Diese Biotope sind die Heimat von Organismen, die eines besonders hohen O_2 -Gehaltes bedürfen. Der O_2 -Gehalt des *Quellwassers* selbst kann unter Umständen, jedenfalls im Flachlande, sehr niedrig sein (THIENEMANN 1924); besonders hoch wurde er dagegen in Gebirgsquellen gefunden, deren Wasser vorher schon durch Schutthalden mit Hohlräumen, z. B. auch im Karst, geflossen und so schon in großer Oberfläche mit Luft in Berührung gekommen war (BREHM und RUTTNER 1926). Von RUTTNER (1926) wurde darauf hingewiesen, daß der O_2 -Gehalt des fließenden Wassers — dasselbe gilt natürlich auch für die Wellenschlagzone größerer Wasseransammlungen (GEITLER 1927) — physiologisch wirksamer ist als der gleiche O_2 -Gehalt stehender Gewässer, da infolge der Strömung dauernd O_2 -reiches Wasser von neuem an das Tier herangebracht wird. Von HUBAULT (1927) ist daher eingehend geprüft worden, welchem Umweltfaktor die Hauptrolle

bei der Vorliebe gewisser Organismen für Gebirgsbäche zukommt (s. auch FEHLMANN 1917, THIENEMANN 1924, 1931a). Die starke Strömung und die kalte Temperatur des betreffenden Wassers scheinen dabei, jedenfalls für viele Organismen, eine geringere Bedeutung zu haben als der hohe O_2 -Gehalt dieses Wassers. Das Vorkommen derselben Organismen in der Nähe der Quellen, weiter unten im Tal in Wasserfällen bei beträchtlich höheren Temperaturen oder auch in stehendem, aber sehr O_2 -reichem Wasser spricht dafür, daß der O_2 als wichtigster Faktor für die Verteilung dieser Wasserformen in Betracht kommt. (Über den Einfluß der niedrigen Temperatur auf das O_2 -Aufnahmevermögen bei Tieren mit Blutfarbstoffen s. unten.)

Der absolute O_2 -Gehalt der fließenden Gewässer nimmt von der Quelle bis zur Mündung allmählich ab, bedingt durch die zunehmende Erwärmung und Verlangsamung des Wasserflusses, besonders aber durch das Auftreten und das Mitführen von O_2 -zehrenden Schlammablagerungen und faulenden Sinkstoffen. Während häufig in den oberflächlichen Schichten noch ein hoher O_2 -Gehalt vorhanden ist, fehlt der O_2 in der Tiefe oft ganz. Besonders unterhalb großer Städte kann infolge der Fäulnisvorgänge durch Abwässer aller O_2 verbraucht sein. So beträgt z. B. der O_2 -Gehalt der Themse oberhalb Londons 7,4 ccm pro Liter, unterhalb Londons (Woolwich) dagegen nur 0,25 ccm pro Liter (nach HESSE 1924). Das tägliche O_2 -Minimum fällt im Sommer im Oberlauf der dort meist nur wenig Pflanzen enthaltenden Flüsse in die heißeste Tageszeit (temperaturbedingt), im Unterlauf ist dagegen am Nachmittag ein Maximum wegen des durch die Pflanzen gebildeten O_2 vorhanden (HUBAULT 1927, BRUJEWICZ 1931).

Besonders eingehend sind die Sauerstoff- und Durchmischungsverhältnisse vor allem der Süßwasserseen von BIRGE und JUDAY (1911/14) und neuerdings von THIENEMANN (1928/31) untersucht worden. In den tieferen Binnenseen wechseln im Jahr zweimal Stagnations- mit Zirkulationsperioden ab (BRÖNSTEDT und WESENBERG-LUND 1911/12). Während des Winters lagert kälteres Wasser, unter Umständen sogar Eis, über dem Wasser von 4°: *Winterstagnation*. Bei der Erwärmung der oberen Wasserschichten im Frühjahr auf 4° sinkt das so schwerer gewordene Wasser in die Tiefe: *Frühjahrszirkulation*. Bei weiterer Erwärmung bleibt das über 4° erwärmte Wasser oben liegen, das Wasser darunter stagniert: *Sommerstagnation*. Die thermischen Tag- und Nachtschwankungen durchmischen nur die obersten Schichten (Epilimnion). Im Herbst dringt das abgekühlte Oberflächenwasser wieder in die Tiefe: *Herbstzirkulation*. Während dieser Durchmischungsperioden herrschen im ganzen See annähernd die gleichen Temperaturen und der gleiche, hohe O_2 -Gehalt der Oberfläche. In den Stagnationsperioden sind die unteren Schichten von dem Kontakt mit der Luft durch das Epilimnion abgeschlossen, es kann sich dann, besonders im Sommer, eine Schichtung in Lebensräume mit sehr stark verschiedenem O_2 -Gehalt in manchen

Seen ausbilden (s. Abb. 1). Es hängt dies nach THIENEMANN im wesentlichen von dem Gehalt an Pflanzennährstoffen (Stickstoff und Phosphor)

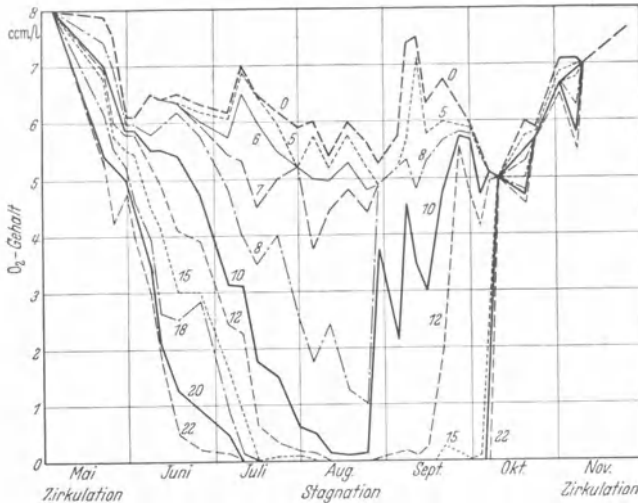


Abb. 1 a. O₂-Gehalt des Wassers in verschiedener Tiefe im Lake Mendota 1909 (nach BIRGE und JUDAY 1911). Die Zahlen an den Kurven geben die Wassertiefe in Meter an.

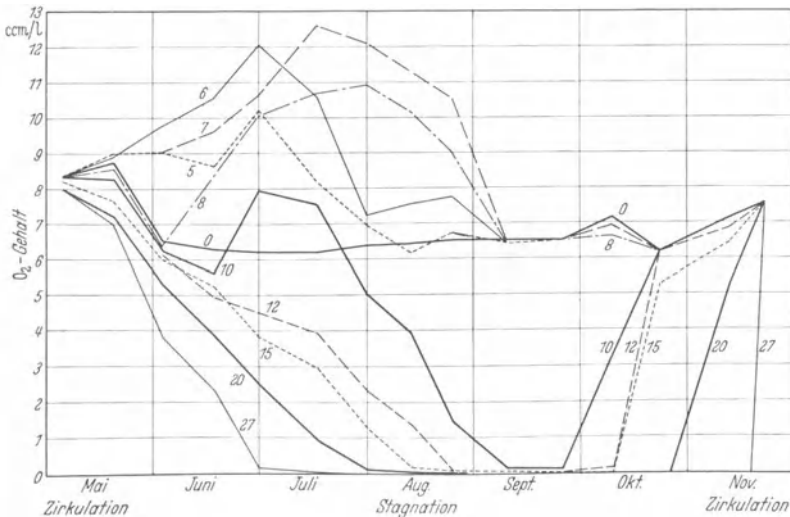


Abb. 1 b. O₂-Gehalt des Wassers in verschiedener Tiefe im Rainbow Lake 1909 (nach BIRGE und JUDAY 1911). Die Zahlen an den Kurven geben die Wassertiefe in Metern an. Beachte besonders die Erhöhungen des O₂-Gehaltes in den oberflächlichen Wasserschichten im Sommer infolge der Assimilation des Phytoplanktons.

des betreffenden Sees ab. Im *oligotrophen* See (mit geringem Gehalt an N und P) sind wegen der geringeren Planktonproduktion nur

wenig Fäulnisprozesse in der Seentiefe, wohin die abgestorbenen Pflanzenorganismen absinken, vorhanden. Da diese Seen (Beispiel: die großen subalpinen Seen) außerdem eine beträchtliche Tiefe besitzen, fault ein Teil des absinkenden Planktons schon beim Absinken aus. Der O_2 -Gehalt sinkt daher auch in der größten Tiefe im Hochsommer

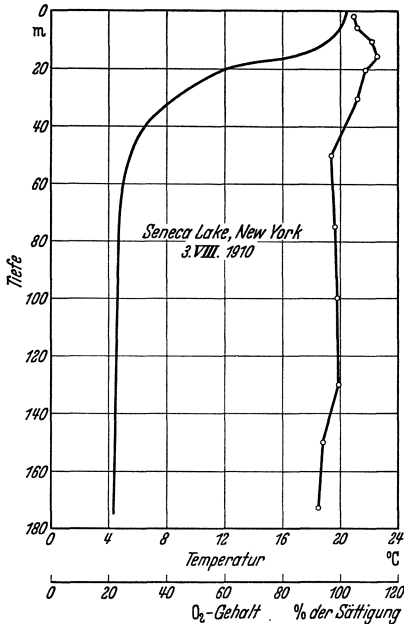


Abb. 2. Sommerliche Sauerstoff- und Temperaturschichtung in einem oligotrophen See (nach THIENEMANN 1928).
o—o O_2 -Gehalt; — Temperatur.

nicht unter 4—5 ccm pro Liter (= 50—60% der Sättigung). Der O_2 -Gehalt nimmt, wenn überhaupt, von der Oberfläche zur Tiefe gleichmäßig ab (Abb. 2). Im flacheren *eutrophen* See (Beispiel: die großen Seen der norddeutschen Tiefebene) mit seinen großen Planktonmengen und seiner starken Ufervegetation findet während der Sommerstagnation eine starke Fäulnis und damit O_2 -Zehrung in allen Schichten statt; diese wird in den oberflächlichen Schichten durch die pflanzliche Assimilation und die Durchmischung infolge thermischer und Windströmungen ausgeglichen. In den untersten Schichten (Hypolimnion) kann der O_2 -Gehalt von 4 ccm pro Liter bis auf 0 sinken; er nimmt in einer zwischen Epi- und Hypolimnion gelegenen Schicht (Metalimnion, O_2 - oder Temperatur - Sprungschicht) ziemlich plötzlich ab. Die O_2 -Kurve verläuft im Sommer ziemlich parallel der Temperaturkurve (s. Abb. 3). —

Der extrem eutrophe See ist an die feuchten Tropen gebunden. Die O_2 -Kurve auch der tiefsten Seen, die im gemäßigten Klima in der Regel oligotroph sind, verläuft in den Tropen (Sumatra) wie in eutrophen Seen (NAUMANN 1932, RUTTNER 1931). — Eine ähnliche Kurve der O_2 -Verteilung wird in dem sogenannten *dystrophen Seentyp* (Beispiel: braune Humusseen Skandinaviens) gefunden: während der Stagnationsperiode ist die Tiefe O_2 -arm bis O_2 -frei, hier übt der Humusdetritus eine nicht biogene O_2 -Zehrung aus. Nach FINDENEGG (1935/36) fehlt dagegen bei gar nicht wenigen ostalpinen Seen die Vollzirkulation (*meromiktische Seen*), die nach ihm nicht statisch, d. h. durch Konvektionsströme, sondern in der Hauptsache dynamisch, d. h. durch Windeinwirkung zustande kommen soll. Bei der im Verhältnis zur Tiefe geringen Oberfläche reicht die Windwirkung für eine Vollzirkulation nicht aus, besonders auch dann nicht, wenn sie durch eine Eisbedeckung

längere Zeit ganz ausgeschaltet wird. Die O_2 -Verhältnisse eines derartigen Sees zeigt die Abb. 4. — Die komplizierten O_2 -Schichtungsvorgänge in einer durch das Einleiten von Abwässern einer Sulfitzellulosefabrik stark verschmutzten und daher im ganzen recht O_2 -armen *Talsperre* (Bleilochsperre der Saale) werden eingehend von LIEBMANN (1938) behandelt. Infolge der Bildung von oft meterhohen Faulschlammsschichten und der sehr starken Entwicklung von Schwefelwasserstoff kann es hier während der Zirkulationsperioden (anstatt zu einer Erhöhung des O_2 -Gehaltes in der Tiefe) sogar zu einem Verschwinden des O_2 auch an der Oberfläche kommen.

Über die außerordentlich starken tageszeitlichen Schwankungen des O_2 -Gehaltes in flachen Fischteichen mit ihren noch künstlich gesteigerten Wasserblüten berichtet WEIMANN (1936). Schon wenige Stunden nach Sonnenuntergang kann das durch die Assimilation der Algenmassen am Tage mit O_2 stark übersättigte Wasser des ganzen Sees infolge der Einstellung der

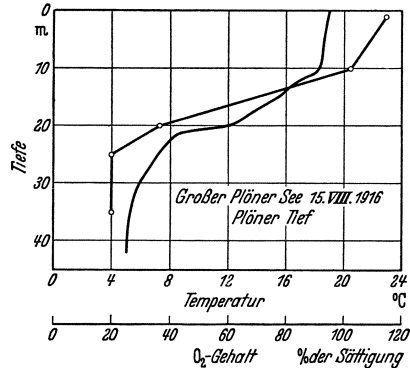


Abb. 3. Sommerliche Sauerstoff- und Temperaturschichtung in einem eutrophen See (nach THIENEMANN 1928). ○—○ O_2 -Gehalt; — Temperatur.

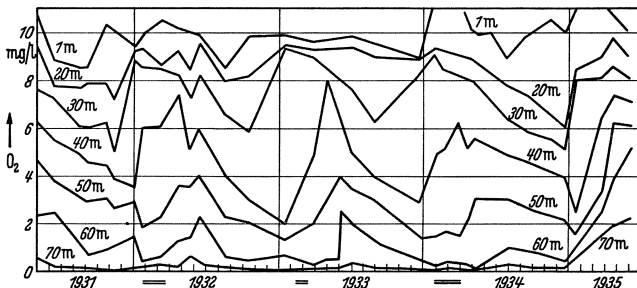


Abb. 4. Sauerstoffgehalt in den verschiedenen Tiefen des Wörther Sees während 4 Jahren (nach FINDENEGG 1935). — Dauer der Eisbedeckung. Maximaltiefe 73 m.

Assimilation und infolge der Abkühlungszirkulation bei der starken O_2 -Zehrung des Schlammes und der Atmung der tierischen und pflanzlichen Bewohner O_2 -frei geworden sein.

In der Tiefe der eutrophen und dystrophen Seen kann es also zu sehr großen Schwankungen des O_2 -Gehaltes innerhalb weniger Monate kommen: Perioden eines hohen O_2 -Gehaltes wechseln mit Perioden ab, wo nur Spuren oder überhaupt kein O_2 , in manchen Seen während einiger Monate, vorhanden ist. So findet sich z. B. im Lake Mendota in einer Tiefe von 22 m 3 bis 4 Monate lang überhaupt kein O_2 mehr, die O_2 -freie Schicht kann während der Sommerstagnation sogar bis ins Epilimnion steigen (BIRGE und JUDAY 1911, COLE 1921). Von GROTE (1934) werden jedoch Bedenken dagegen erhoben, daß der O_2 in der Seentiefe für derartig lange Zeiten völlig verschwinden soll.

Denn eine ganze Reihe der dort gefundenen Organismen (Ciliaten, Anneliden, Crustaceen, Insektenlarven usw.) hält zwar in Laboratoriumsversuchen ein Fehlen des O_2 für einige Zeit, jedoch bei weitem nicht derartig lange aus (ALSTERBERG 1922). Nach v. BRAND (1934 b) ist dies verschiedene Verhalten möglicherweise durch den plötzlichen Entzug des O_2 in den Versuchen gegenüber dem langsam einsetzenden O_2 -Mangel in der Natur erklärbar (s. auch unten). Von GROTE wird jedoch darauf hingewiesen, daß das besonders früher angewandte O_2 -Bestimmungsverfahren, die WINKLERSche Originalmethode ohne Korrektur, bei sehr geringem O_2 -Gehalt nicht mehr ausreicht (s. auch ALLEE u. a. 1934), und daß daher dort, wo man früher eine Anaerobiose annehmen mußte, in Wirklichkeit O_2 , wenn auch nur in sehr geringen Mengen, vorhanden ist und ausgenutzt werden kann. Die Zeitspanne, in der wirklich kein O_2 vorhanden ist, soll sehr viel kürzer sein. Von einer Reihe von Organismen (z. B. *Corethra*-Larven) ist ferner bekannt, daß sie in gewissen Zeitabständen O_2 -enthaltende Gegenden aufsuchen (JUDAY 1921).

Außer von der oben erwähnten Größe der Austauschfläche zwischen Luft und Wasser hängt der O_2 -Gehalt des Wassers noch von verschiedenen anderen physikalischen Faktoren ab. So nimmt mit abnehmendem Atmosphärendruck auch die Wasserlöslichkeit des O_2 ab. Das Wasser in Gebirgsbächen, z. B. in 2700 m Höhe, ist deshalb schon bei einem O_2 -Gehalt von 5,2 ccm luftgesättigt (bei 12°) gegenüber 7,4 ccm pro Liter in der Ebene. Dazu kommt ebenso wie in der Luft noch die Erniedrigung des O_2 -Druckes als atmungsschwerender Faktor hinzu. Über ökologische Atmungsuntersuchungen an Wasserinsekten in dieser Höhe s. DODDS und HISAW (1924). Das Fehlen von Fischen in den hochgelegenen Seen der südamerikanischen Anden soll durch die infolge ihrer Höhenlage bedingte O_2 -Armut verursacht sein (BOUSSIGNAULT, zitiert nach HESSE 1924).

Durch Erhöhung der Temperatur wird gleichfalls die Löslichkeit des O_2 im Wasser herabgesetzt (s. die Zahlenangaben oben). Der O_2 -Gehalt der Gewässer im Sommer zur Zeit der stärksten Erwärmung kann dadurch auf fast die Hälfte der Werte während der kalten Jahreszeit sinken. Auch in den tropischen Sümpfen mit Temperaturen bis zu 42° ist daher der O_2 -Gehalt sehr niedrig und kann selbst an der Oberfläche nur 0,5—0,2 ccm pro Liter (nach Regen etwa 2—3 ccm pro Liter) betragen. Es ist dies außerdem durch die starken, bakteriellen Zersetzungen organischer Substanzen, durch die in den warmen Nächten fehlenden thermischen Konvektionsströmungen und die durch die Vegetation verhinderten Wasserbewegungen bedingt (CARTER und BEADLE 1931 a). Das häufige Auftreten von besonderen Atmungseinrichtungen („Luftatmung“) bei Fischen in diesen Gewässern wird so verständlich (DAS 1937).

In diesem Zusammenhange ist der Hinweis von RUTTNER (1926) wichtig, daß zur Kennzeichnung des „respiatorischen Wertes“ eines Wasserbiotopes weder die Angabe des absoluten O_2 -Gehaltes noch die der prozentualen O_2 -Sättigung des Wassers genügt, sondern auch die Temperatur desselben berücksichtigt werden muß, da der O_2 -Verbrauch der im Wasser lebenden Poikilothermen ja entsprechend der RGT.-Regel von der Temperatur abhängig ist. Bei gleichem O_2 -Gehalt sind die Atmungsverhältnisse in kalten

Gebirgsbächen oder in der kühleren Tiefenregion eines Gewässers daher günstiger als an der warmen Oberfläche eines Sees, was die Gebundenheit vieler O_2 -bedürftiger Tiere an Gebirgsbäche oder die Tiefe verständlich macht. Es liegt dabei die Frage nahe, wie weit die sehr häufig bei Poikilothermen zu beobachtenden Temperaturverteilungsgrenzen (Stenothermie) nicht in Wirklichkeit durch das O_2 -Bedürfnis der betreffenden Tiere bedingt sind (s. oben). Die Verhältnisse scheinen bei den einzelnen Organismen verschieden zu liegen (HUBAULT 1927), sicherlich stellt die Temperatur bei einer ganzen Reihe von Tieren dabei den Hauptfaktor dar. (THIENEMANN 1924). Nach BREHM und RUTTNER (1926) ist es jedoch bei Beachtung des hohen O_2 -Bedarfs der Bachtiere nicht unwahrscheinlich, daß die niedrige Temperatur hier in erster Linie indirekt durch Herabsetzung der Atmung zur Geltung kommt. Diese Tiere können bei höheren Temperaturen auch bei noch so hohem O_2 -Gehalt ihr gesteigertes O_2 -Bedürfnis nicht mehr befriedigen. Dabei ist noch zu berücksichtigen, daß bei Poikilothermen mit Atmungspigmenten die Temperatur einen Einfluß auf die O_2 -Versorgung durch Veränderung der Eigenschaften des Hämoglobins gewinnen kann: Bei zu hoher Außentemperatur wird zu wenig O_2 vom Hämoglobin aufgenommen, bei zu niedriger Temperatur zu wenig O_2 vom Blut an die Gewebe abgegeben. Die Temperaturabhängigkeit würde so auf eine Atmungswirkung zurückführbar sein, die nach FOX (1932) sehr wahrscheinlich einen der begrenzenden Faktoren in der geographischen Verbreitung dieser Tiere darstellt (FOX und SIMMONDS 1932/33).

3. Seewasser.

Auch durch die Lösung von Salzen im Wasser wird die Löslichkeit des O_2 erniedrigt. *Meerwasser* ist daher unter sonst gleichen Bedingungen, bei gleichem O_2 -Druck, O_2 -ärmer als Süßwasser: bei Luftsättigung und 0° enthält ein Liter Süßwasser 10,29 ccm O_2 , ein Liter Seewasser bei 35‰ Salzgehalt dagegen nur 8,04 ccm O_2 . Da der Salzgehalt des Oberflächenwassers der Nord- und Ostsee beträchtlichen Schwankungen unterliegt, können auch auf diese Weise Schwankungen des O_2 -Gehaltes zustande kommen (BR. SCHULZ). Dieser geringere O_2 -Gehalt des Meerwassers wird jedoch in seiner Wirkung auf das eventuell leichtere Zustandekommen von Lebensräumen mit niedrigem O_2 -Gehalt bei weitem ausgeglichen durch das Vorhandensein stärkerer und besonders regelmäßiger Strömungen und damit Durchmischungen, als sie im Süßwasser vorhanden sind. Diese Durchmischungen werden nach HESSE (1924) durch Wellenbewegungen bei Stürmen, durch die Gezeitenbewegung, durch die Ansaugung von Tiefenwasser bei ablandigen Winden an der Küste und besonders auch durch thermische Konvektionsströmungen bewirkt.

Der O_2 -Gehalt des Oberflächenwassers entspricht wegen der leichten Ausgleichsmöglichkeiten mit der Atmosphäre praktisch immer dem der Luftsättigung. Das Wasser kann in den gut belichteten Schichten, bis zu 20 bzw. 40 m Tiefe, infolge der Photosynthese des pflanzlichen Planktons in den Sommermonaten sogar O_2 -übersättigt sein (BR. SCHULZ). Aber auch der O_2 -Gehalt der großen Tiefen der Weltmeere mit ihrem von den oberflächlichen Schichten höherer Breiten herrührenden kalten Wasser ist fast so hoch wie an der Oberfläche, zum Teil höher (SEIWELL

1937). Nur wo diese Strömungen fehlen und wo eine Wasserstagnation auftritt, kommt es zu stärkeren Graden einer O_2 -Verarmung oder sogar zu einem Fehlen von O_2 : so z. B. im Pazifischen Ozean in der Nähe des Panamakanals in etwa 400—500 m Tiefe (RUSSEL 1927), in durch Barren abgeschlossenen norwegischen Fjorden, in manchen Gegenden des Mittelmeeres, in den tiefen Mulden der Ostsee, in Buchten und Häfen usw. (Über Angaben des O_2 -Gehaltes verschiedener Meere s. Tab. biologic. IV.) Besonders deutlich macht sich dies Fehlen einer stärkeren Vertikalzirkulation im Schwarzen Meer bemerkbar, das hier durch die beträchtlichen Unterschiede im Salzgehalt und damit in der Dichte zwischen den oberen und unteren Schichten bedingt ist. O_2 ist nur in den oberen (etwa 150—200 m tiefen) Schichten vorhanden. Dazu kommt, daß in der dauernd O_2 -freien Tiefe infolge der Fäulnisprozesse eine sehr starke Ansammlung von H_2S stattfindet, durch die etwa $\frac{9}{10}$ der gesamten Wassermenge vergiftet sind (GALTSOFF 1924). Ähnliche Verhältnisse liegen auch im Kaspischen Meere vor (KNIPOWITSCH 1926).

Problem der Atmung in Süß- und Salzwasser.

In diesem Zusammenhange ist auf eine Fragestellung hinzuweisen, die zuerst von THIENEMANN (1928 b, s. dort weitere Literatur) scharf formuliert worden ist, das Problem der *Atmung im Süß- und Salzwasser*.

Der Ausgangspunkt dazu waren Beobachtungen, daß Meeres- oder Brackwassertiere bei ihrem Vordringen ins Süßwasser sehr O_2 -reiche Biotope bevorzugen und sich nur in strömendem Süßwasser, in kalten, O_2 -reichen Seen usw. halten können, auch wenn sie im Salzwasser keine großen Anforderungen an den O_2 -Gehalt gemacht haben. So benötigt z. B. der glazialmarine Reliktenkrebs *Mysis relicta* in der Ostsee einen O_2 -Gehalt von 1,6 ccm pro Liter, im Süßwasser dagegen 3—4 ccm pro Liter. Ähnliche Verhältnisse scheinen auch bei dem Amphipoden *Pontoporeia affinis* vorzuliegen. *Cordylophora lacustris* (Hydrozoe) kommt im Brackwasser an stagnierenden oder nur schwach bewegten Stellen vor, im Süßwasser ist sie auf den hohen O_2 -Gehalt stark fließenden Wassers angewiesen (ROCH 1924). Eine große Anzahl weiterer Beispiele werden von REMANE (1934) angeführt; Ausnahmen von dieser Gesetzmäßigkeit sind nicht bekannt geworden.

Bei verschiedenen Tierarten konnte ferner nachgewiesen werden, daß die Süßwasserformen normale, die Salzwasserformen jedoch mehr oder weniger stark rückgebildete Atmungsorgane besitzen. So haben z. B. bei den Wassermilben, *Hydracarina*, die beiden im Meer lebenden Arten, *Pontarachna* und *Litarachna*, ein reduziertes, nicht funktionsfähiges Tracheensystem im Gegensatz zu den Süßwasserarten mit ihrem wohlausegebildeten Tracheensystem. Bei *Culiciden*-, *Aedes*- und *Chironomus*-Larven aus salzhaltigem Wasser waren ferner die „Analkiemen“ bzw. die „präanaln Blutkiemen“ im Verhältnis zu den Anhängen reiner Süßwasserformen stark rückgebildet gefunden worden

(LENZ 1920, 1930, MARTINI 1923, VOGEL 1927). Ob es sich allerdings bei den Anhängen dieser Tiere tatsächlich um Atmungsorgane handelt, ist nach den Untersuchungen von FOX (1921) nicht mehr als sicher anzusehen (s. auch HARNISCH 1930).

Nach WIGGLESWORTH (1933a, b) können derartige Körperanhänge bei Wasserinsekten nur dann als Atmungsorgane in Betracht kommen, wenn sie reichlich mit Tracheen oder fließendem Blut versorgt sind, was beides bei den hier besprochenen Tieren nicht der Fall ist. Es soll sich vielmehr bei *Aedes* um Organe mit wasserdurchlässigen Membranen handeln; ihr Fehlen verhindert den Wasserentzug in hypertonischen Lösungen; ihre künstliche Entfernung erhöhte jedoch die Widerstandsfähigkeit gegenüber Salzwasser nicht (WANG 1938). Auch bei *Chironomus*- und *Culex*-Larven sollen diese Organe nach H. KOCH (1938) im Dienst der Osmoregulation stehen, durch sie findet eine aktive Absorption von Chloriden aus der Umgebung statt, die das dauernd an anderen Körperstellen herausdiffundierende Salz ersetzen sollen. Durch die „biologische O₂-Bestimmung“ mit Flagellaten (s. unten) konnte jedenfalls kein Anhaltspunkt für eine größere O₂-Aufnahme durch diese Organe als durch die übrige Haut erbracht werden, außer vielleicht an einer Stelle an der Basis der Analkiemien (FOX 1921). REMANE (1934) weist allerdings darauf hin, daß diese Rückbildungen von LENZ auch bei Larven in sehr O₂-reichem Süßwasser beobachtet wurden. Und neuerdings konnte HARNISCH (1937a) die Bedeutung dieser Anhänge bei *Chironomus* für die Erholungsatmung nach O₂-Mangel zeigen: sie kommen hauptsächlich bei Formen aus O₂-armen Biotopen vor, ihre Unterbindung verringert den O₂-Verbrauch nach Atemnot, so daß ihnen danach doch eine Funktion bei der O₂-Versorgung zukommen würde.

Aus all diesen Beobachtungen wurde von THIENEMANN (1925, 1926, 1928a) der Schluß gezogen, daß die Atmung im Salzwasser leichter als im Süßwasser vonstatten geht. Möglicherweise ist auch die Beobachtung von MERKER (1928), daß *Neomysis vulgaris* (Schizopode), ins Süßwasser gebracht, bei Unruhe und sehr schnellem Schlagen der Atemäste bald (angeblich wegen Behinderung der CO₂-Abgabe) eingeht, in diesem Sinne zu verwerten.

Dies Problem wurde einer Erklärung näher gebracht durch die Beobachtung, daß ganz allgemein die Süßwasserbewohner einen sehr viel stärkeren O₂-Verbrauch zu haben scheinen als die Meeresformen (FOX und SIMMONDS 1932/33, JÜRGENS 1935, SCHLIEPER 1936/38, CLAUS 1937). Der O₂-Verbrauch mariner Formen (*Gammarus*, Asseln) ist dabei oft nur $\frac{1}{3}$ so groß wie der von nahe verwandten Süßwasserformen, so daß also die größeren O₂-Ansprüche durch den größeren O₂-Bedarf der Süßwasserorganismen bedingt sind. Die experimentelle Überführung von Seewassertieren in Süß- oder Brackwasser ruft eine Atmungssteigerung hervor (TARUSSOV 1930, SCHLIEPER 1929, 1931, FONTAINE und RAFFY 1932, ISHIDA 1935, LÖWENSTEIN 1935), während umgekehrt der O₂-Verbrauch beim Übergang von Süß- in Salzwasser herabgesetzt war (RAFFY und FONTAINE 1930, RAFFY 1934a, PETERS 1935). Diese Erhöhung des O₂- und Energiebedarfs im Süßwasser begrenzt natürlich die Einwanderung vieler mariner Formen, ihr Fehlen macht das leichte Eindringen z. B. von *Eriocheir* verständlich (THIENEMANN 1928b, SCHLIEPER 1936).

Die zuerst angenommene Erklärung dieser Tatsachen war die, daß der erhöhte O_2 -Verbrauch durch die Mehrarbeit bedingt ist, die im Dienste der Osmoregulation zum Herausschaffen des im Süßwasser vermehrt eindringenden Wassers geleistet werden muß (SCHLIEPER 1929, BEADLE 1931, 1934, SCHWABE 1933). Da jedoch auch bei Pflanzen (Algen) die Atmungsintensität bei Süßwasserarten (HARDER 1915) oder bei zunehmender Verdünnung des Meerwassers (HOFFMANN 1929) um ein Vielfaches größer ist als bei Salzwasserformen oder im unverdünnten Seewasser, und da auch die Gewebe (Muskeln) von Meerestieren, die keine osmoregulatorischen Fähigkeiten besitzen und daher im Brackwasser, bei herabgesetzter Atmung schnell geschädigt werden (z. B. Spinnenkrabbe *Hyas aranea*), im verdünnten Meereswasser eine Steigerung des Gaswechsels zeigen, wird neuerdings von SCHLIEPER (1936/38) angenommen, daß diese Atmungssteigerung von Meerestieren in salzärmeren Medien nicht auf die osmoregulatorische Leistung dieser Tiere zurückgeführt werden kann. Es soll sich hier vielmehr um eine allgemeine Gesetzmäßigkeit handeln, wobei die in salzärmeren Medien auftretende Zunahme des Wassergehaltes in den Geweben die ausschlaggebende Rolle spielt, ein Annahme, die schon von TARUSSOV (1930) gemacht worden ist und von BEADLE (1931) zurückgewiesen wurde.

Diese Zunahme des Wassergehaltes konnte direkt nachgewiesen werden (*Carcinus maenas*); fehlt sie, wie z. B. bei *Eriocheir chinensis* im Süß- oder Brackwasser, dann fehlt auch der erhöhte O_2 -Verbrauch (SCHLIEPER 1936, SCHWABE 1933, PIEH 1936). Die Veränderung des kolloidchemischen Zustandes des Protoplasmas oder vielleicht die Vergrößerung der inneren atmenden Oberfläche durch die Quellung soll dabei die Ursache der Atmungssteigerung sein. Als weiteren Beweis seiner Annahme werden schließlich von SCHLIEPER nach folgende Beobachtungen angeführt: Atmungs Zunahme mit steigendem Wassergehalt der Gewebe bei Moosen (MAYER und PLANTFOL 1925), bei Flechten (STOCKER 1927), bei *Helodea canadensis* (WALTER 1928), und bei *Helix* (FISCHER und DUVAL 1931), Erhöhung des O_2 -Verbrauches bei der Quellung isolierter überlebender Organe (Kiemen und Muskeln) in hypotonischem Brackwasser oder nicht äquilibrierten isotonischen Salzlösungen (PIEH 1936). Die Bedeutung dieser Erscheinung, daß mit zunehmendem Wassergehalt (natürlich nur bis zu gewissen Grenzen) des Protoplasmas die Atmung, und damit die physiologische Aktivität erhöht wird, wird besonders bei den trocken lebenden Organismen (Flechten, Moosen, Landschnecken) mit ihrem großen Schwankungen unterworfenen Wassergehalt klar.

Gegen diese SCHLIEPERSche Hydratationshypothese werden von CLAUS (1937) eine Reihe von Einwänden erhoben. So wird ein Teil der von SCHLIEPER als Beweise angeführten Beispiele zurückgewiesen, da es sich bei dem dort beschriebenen Zusammentreffen von erhöhtem Wassergehalt und erhöhtem O_2 -Verbrauch der Gewebe um Wachstumsvorgänge handelt. Und schließlich werden Versuchsergebnisse angeführt, wo trotz Gewichtszunahme der Organismen im verdünnten Außenmedium keine Atmungssteigerung zu beobachten war oder wo eine Atmungs Zunahme vorhanden war, obwohl das mehr aufgenommene Wasser keine Gewebsquellung, sondern nur eine Zunahme der Leibeshöhlenflüssigkeit verursacht hatte oder nur in bestimmten Zellen in Vakuolenform aufgenommen war (BEADLE 1931, 1934). Nach CLAUS soll die Atmungssteigerung in einem veränderten Medium durch

die aktive Tätigkeit bedingt sein, mit der die gestörte Permeabilität der Grenzzellschichten wiederhergestellt und den neuen Gegebenheiten angepaßt wird.

4. Besondere Biotope.

Schließlich sei noch anhangsweise auf einige Beispiele von Biotopen hingewiesen, die außer durch andere Faktoren auch durch besonders niedrige O_2 -Konzentrationen gekennzeichnet sind. So konnte von ALSTERBERG (1922) gezeigt werden, daß der Schlamm am Boden der Gewässer (dasselbe gilt für Abwässer) infolge der lebhaften chemischen und biologischen Reduktionsvorgänge schon in einer Tiefe von wenigen Millimetern völlig O_2 -frei ist, der gesamte in den Schlamm hineindiffundierende O_2 wird von der sehr großen Zahl von Bakterien der obersten Schichten verbraucht [s. besonders auch die Untersuchungen über den Faulschlamm (Sapropel) von LAUTERBORN]. Je nach der Höhe des O_2 -Gehaltes des Wassers über dem Schlamm findet sich eine O_2 -Schichtung (von 0 bis zu hohen O_2 -Werten) auf vertikal eng begrenztem Raum (*Mikroschichtung*) oder über größere Wasserhöhen verteilt (*Makroschichtung*). Während sich in der vollkommen O_2 -freien Schlammschicht die anaeroben Bakterien finden, sammeln sich in den darüber befindlichen Schichten verschiedenen Sauerstoffgehaltes die Organismen an, für die dieser O_2 -Gehalt die optimalen Lebensbedingungen darstellt. Bei Veränderung der Lage dieser Schichten, z. B. wenn die O_2 -Losigkeit auch die untersten Wasserschichten mit erfaßt, wandern die Organismen entsprechend mit (GROTE 1934). — In Torfmooren mit stehendem Wasser fehlt schon in 20 cm Tiefe jeder O_2 , in nassen Sphagnumpolstern, in versumpften Wäldern, überall wo organische Substanzen mit Wasser getränkt sind, fehlt in der Regel der O_2 (LUNDGÅRDH 1924).

Es ist dann das Darminnere von Wirbeltieren, besonders von Warmblütern, zu erwähnen. Diese Frage ist besonders interessant, da durch neuere Untersuchungen (s. unten) bei einer ganzen Reihe von Darmparasiten, die bis vor kurzem noch als typische Vertreter eines Lebens ohne O_2 galten, eine O_2 -Aufnahme nachgewiesen werden konnte. Der O_2 -Gehalt des Dünndarminhaltes einer Reihe von Säugetieren (Rind, Schwein, Hund usw.) war nach v. BRAND und WEISE (1933) außerordentlich gering, zum Teil sogar gleich 0, wofür auch das Vorwiegen von Reduktionsprozessen in dem Darmabschnitt spricht. Die SLATERSche (1928) Annahme einer O_2 -Ausscheidung von der Darmwand wird zurückgewiesen.

In den Dünndarmgasen, die jedoch nur selten überhaupt vorhanden waren, wurde bis zu 8,2% O_2 gefunden (s. auch LONG und FENGER 1917). Der O_2 -Gehalt der untersuchten Blasengalle, in der ebenso wie im Lumen der Gallenwege Parasiten vorkommen (*Fasciola hepatica* z. B.) war verschwindend niedrig (0,026—0,083 Vol.-%), zum Teil gleich 0 (s. dagegen ADAM 1932).

Auch das Vorkommen von Organismen in heißen Quellen zeigt die große Anpassungsfähigkeit derselben (außer an andere Faktoren) an den sehr geringen O_2 -Gehalt dieser Quellen (BRUES 1927, RAHM 1937; über die Atmungsbedingungen in Thermalquellen s. STROUHAL 1934). Die infolge der hohen Temperatur an und für sich geringe O_2 -Löslichkeit kann durch den oft sehr hohen Salzgehalt dieser Quellen noch weiter herabgesetzt werden, dazu kommt der niedrige „respiratorische Wert“ infolge der hohen Temperatur (s. oben). Trotzdem konnten von RAHM noch bei 57—69° Nematoden in Algenbelegen beobachtet werden; chlorophyllfreie Pflanzen und Bakterien wurden im Yellowstonepark bei 89° gefunden (HOEPLI 1926/32 nach RAHM). In westjavanischen Quellen war bei 51° noch eine Massenentwicklung einer Chironomidenlarve vorhanden (nach THIENEMANN 1931 a).

Daß auch durch die Ausbildung einer oberflächlichen Eisdecke der O_2 -Gehalt der Gewässer verändert wird, wurde oben schon erwähnt (Winterstagnation). Das Eindringen von O_2 aus der Luft, die Durchmischung durch den Wind wird verhindert, und da gleichzeitig die O_2 -Produktion durch grüne Pflanzen jedenfalls bei undurchsichtiger Eisdecke geringer wird, kann es zu einer recht beträchtlichen Abnahme des O_2 -Gehaltes kommen. Eine gewisse Anpassung erfolgt durch die bei den Poikilothermen temperaturbedingte Abnahme des Stoffwechsels, die zum Teil noch durch das Auftreten schlafähnlicher Zustände verstärkt sein kann. Dies spielt auch eine Rolle bei der Erklärung der Tatsache, daß eine Reihe von Organismen im Eis eingeschlossen am Leben bleiben können. So konnten z. B. Schnecken (*Helix*, *Limnaea*, *Bythimia*) einige Zeit im Eis eingefroren lebend erhalten werden und auch auf einige Grade unter 0° (— 3 bis — 1,5°) unterkühlt werden (WEIGMANN 1936, HESSE 1937). Über ähnliche Beobachtungen bei Wirbeltieren und Insekten berichtet KALABUCHOW 1935. Bei Fischen (Stichlingen) war dagegen auch bei 0° der O_2 -Verbrauch zu groß: die Atmung war beim Einfrieren nach Frequenz und Amplitude in dem beständig dünner werdenden Wassermantel gesteigert. Der Tod im Eis eingeschlossener Fische, die im Inneren leicht unterkühlt sind, scheint durch Ersticken zu erfolgen (bei Bildung von Eiskristallen im Inneren des Körpers tritt der Tod bei allen Lebewesen sofort ein). Nach WEIGMANN und HESSE soll dagegen ein Fisch, dessen O_2 -Bedarf bei 0° minimal ist, und dessen O_2 -Vorrat, besonders in der Schwimmblase, verhältnismäßig groß ist, auch vom Eis umschlossen längere Zeit am Leben bleiben können, wodurch sich vielleicht die Berichte erklären, daß „eingefrorene“ Fische nach dem Auftauen noch lebten.

II. Die Bedeutung des Sauerstoffs für die lebenden Organismen.

a) Lebensprozesse ohne Sauerstoff.

An allen diesen in bezug auf ihren O_2 -Gehalt so verschiedenen Orten, auch dort, wo der O_2 -Gehalt für kurze Zeit oder selbst für dauernd fehlt, sind Lebewesen anzutreffen, deren Organisation gerade auf den O_2 -Gehalt der betreffenden Umwelt eingestellt ist. Daß auch ein Leben ohne O_2 möglich ist, wurde schon erwähnt. Prinzipiell können

ja die oxydative und anoxydative Energiegewinnung als gleichwertige Prozesse angesehen werden. Auf die Dauer können jedoch nur verhältnismäßig wenig Organismen vollkommen ohne O_2 auskommen („Anaerobier“, ständige Faulschlammbewohner usw.). Sicher ist jedoch, daß ein zeitweises Fehlen von O_2 von vielen Organismen ertragen werden kann, wobei als Notbehelf eine anoxydative Energiegewinnung („*Notanaerobiose*“) stattfindet. Jedoch ist das Maß, wie weit eine Anoxybiose bei den einzelnen Organismen oder auch innerhalb derselben ausgehalten werden kann (das „ O_2 -Bedürfnis“ der Organismen) sehr verschieden. Dabei stellt häufig das Wesentliche die Fähigkeit dar, die oft giftigen Endprodukte des Spaltungsstoffwechsels zu eliminieren oder unschädlich zu machen.

Einen Hinweis, wie verschieden von den *einzelnen Organen* bei fehlendem O_2 die Funktion aufrecht erhalten werden kann, mögen folgende Beispiele bilden. So kann interessanterweise zwar die Bewegung von Hühnerfibroblasten, des Herzens, die Kontraktion von Muskelzellen, die Zilienbewegung der Parameecien anaerob, auch noch in reduzierendem Milieu für eine gewisse Zeit stattfinden, die Zellteilung hört jedoch sofort auf, sobald der O_2 -Druck unter 7 mm Hg gesunken ist (FAURÉ-FRÉMIT u. a. 1929, EPHRUSSI u. a. 1929). Bei völligem O_2 -Mangel überleben befruchtete und unbefruchtete Seeigelleier; die Befruchtung selbst, die Entwicklungsvorgänge sind jedoch an das Vorhandensein von O_2 geknüpft (HARVEY 1930). Auch die Regeneration der Hydrantenknospen von *Tubularia* ist vom O_2 -Gehalt abhängig; sie unterbleibt unterhalb 1 ccm O_2 pro Liter, wodurch die Stammstückchen selbst nicht beeinflußt werden (BARTH 1938). Bei den höher entwickelten Organismen ist die Funktionsfähigkeit ohne O_2 überhaupt nur auf einzelne Gewebe beschränkt, so können z. B. die Muskeln der Wirbeltiere einige Zeit ohne O_2 arbeiten, nicht dagegen das Nerven- und Drüsengewebe, das sofort nach Aussetzen der O_2 -Zufuhr seine Tätigkeit einstellt.

Eine zusammenfassende Darstellung über die in so verschiedenen Ausmaßen vorhandene Fähigkeit der anoxybiontischen Energiegewinnung der Wirbellosen ist von v. BRAND (1934b; s. auch SLATER 1928) gegeben worden. Entsprechend ihrem Vorkommen in O_2 -losen Biotopen und nach dem Verhalten in Erstickungsversuchen können, um nur einige Beispiele zu nennen, besonders Ciliaten, parasitische Protozoen und Würmer, eine ganze Reihe frei lebender Würmer [z. B. Tubificiden, *Owenia*, *Sipunculus*, Blutegel (s. auch HERTER 1937), Nematoden], Lamellibranchier, einige Crustaceen (Copepoden, Ostracoden, Cirripedien), Myriapoden, Chironomiden- und Corethralarven einige Tage bis zu einigen Wochen ohne O_2 auskommen. Bei einer ganzen Reihe von ihnen wird dabei die O_2 -freie Periode in einem asphyktischen Starrezustand (Energieersparnis!) verbracht. Es kann ferner angenommen werden, daß bei jenen Organismen mit einer ausgesprochenen Abhängigkeit des O_2 -Verbrauches vom O_2 -Druck (s. unten) schon unter normalen O_2 -Bedingungen ein Teil der Lebensvorgänge anoxybiontisch abläuft. Auch bei den Trypanosomen im Blut sind nach v. BRAND trotz des genügend hohen O_2 -Gehaltes in der Umgebung der Zellen anoxydative Prozesse in beträchtlichem Maße nachweisbar. Eine sehr viel geringere Widerstandsfähigkeit gegenüber

einem O_2 -Mangel besitzen besonders die Insektenimagines, die Arachnoideen, Cephalopoden und vor allem die höheren Wirbeltiere (bei Warmblütern nur noch für wenige Minuten).

Von v. BRAND und HARNISCH (1933) ist auf Grund dieser verschiedenen Bedeutung des O_2 für die einzelnen Organismen und der verschiedenen Eigenart ihres Betriebsstoffwechsels eine Einteilung der Tiere aufgestellt worden. Es wird zwischen *Monobionten*, bei denen nur eine der beiden Arten der Energiegewinnung möglich ist, und *Amphibionten*, die sowohl auf oxybiontische als auch auf anoxybiontische Weise ihre Lebensprozesse aufrecht erhalten können, unterschieden. Bei den letzteren verdrängt in der Regel die oxybiontische Energiegewinnung, wenn sie in ausreichendem Maße möglich ist, die anoxybiontische.

Monobionten, bei denen überhaupt keine Spaltungsprozesse, auch nicht in den einzelnen Geweben vorkommen, sind nicht bekannt. Bei den nur anoxybiontisch lebenden Organismen (obligate Anaerobier) stößt man auf die interessante Tatsache, daß der O_2 auch unter Umständen einen schädlichen Einfluß ausüben kann. Diese schon bei einem geringen O_2 -Druck geschädigten Lebewesen werden als *anaerobe Organismen* bezeichnet. Eine ganze Reihe von Bakterien gehört hierher [z. B. auch verschiedene Schlamm-bakterien, die H_2S -Bildner usw. (GROTE 1934)] und verschiedene Faulschlammprotozoen [Sapropelciliaten (JUDAY; LAUTERBORN; LIEBMANN; WETZEL usw.)]. Es sei darauf hingewiesen, daß bei sehr genauer Untersuchung unter Umständen auch bei „strengen Anaerobiern“ (z. B. bei *Bact. sporogenes*) ein sehr geringer O_2 -Gehalt (0,024 %) sich nicht als letal, sondern als notwendig herausgestellt hat (QUASTEL und STEPHENSON 1926). Von besonderem Interesse sind in diesem Zusammenhange schließlich noch Beobachtungen von LIEBMANN (1938), der im Inneren der streng anaerob lebenden Sapropelprotozoen bestimmte Bakterien nachweisen konnte, die dort zuerst symbiontisch leben und dann in Nahrungsvakuolen verdaut werden. Es wird als wahrscheinlich angenommen, daß die Bedeutung dieser Symbiose in einer O_2 -Abspaltung durch die Bakterien besteht, die den Protozoen überhaupt erst das Leben in dem O_2 -freien und H_2S -haltigen Wasser ermöglicht. Das normalerweise nicht anaerob lebende Infusor *Colpidium colpoda* kann nach Hervorrufung einer künstlichen Symbiose mit Chlorobakterien anaerob und bei Anwesenheit von H_2S leben.

b) Wirkung eines zu hohen Sauerstoffdruckes.

Nicht nur bei den Anaerobiern, sondern bei einer ganzen Reihe von Organismen ist zu beobachten, daß *reiner* O_2 und auch schon ein wesentlich höherer O_2 -Gehalt als der, an den die Lebewesen in ihren Biotopen gewöhnt sind, einen beunruhigenden, zum Teil sogar einen schädigenden Einfluß besitzt und zum Tode führen kann (BERT 1878, CAMPBELL 1927, HERSHEY 1930, s. unter anderem die Beispiele stenoxymbionter Anpassung). Pflanzen (MOLLIARD 1935) werden durch einen erhöhten O_2 -Druck ebenso geschädigt wie z. B. Regenwürmer (THOMAS 1935), Insekten [*Dixippus* (v. BUDDENBROCK und v. ROHR 1922, STAHN 1928)], Schmetterlingsraupen und -puppen (PRÜFFER 1919), junge Fische (HÄMPEL 1928) und Säugetiere (ACHARD u. a. 1927, RICHTER 1927, BOUNHIOL 1929). Der Tod erfolgte bei den Säugetieren (und den jungen Fischen) in Asphyxie,

und zwar nach BOUNHIOL aus folgendem Grunde: Infolge der leichteren O₂-Aufnahme kommt es zu einer Verlangsamung des Kreislaufes, die Stoffwechselprodukte häufen sich in den Geweben an (CAMPBELL 1930), was schließlich zu einem Verlust der O₂-Fixation und des Oxydationsvermögens führen soll. Auch v. BUDDENBROCK (1938) beobachtete bei einer Reihe von Tieren (z. B. *Pleuromnectes*) in sehr O₂-reichem Wasser ein Absinken der CO₂-Abgabe, das wohl durch die sehr starke Reduktion des Atemminutenvolumens infolge des hohen O₂-Druckes bedingt ist (aktive Atmungshemmung oder Fortfall eines Atemreizes?). Nach dem Rückversetzen in Wasser mit normalem O₂-Gehalt findet bei diesen Tieren eine stark vermehrte CO₂-Ausscheidung statt. Dagegen soll *Dixippus* zunächst mit einer Atmungssteigerung auf den hohen O₂-Gehalt reagieren. — Die tödliche Wirkung von reinem O₂ bei luftatmenden Wasserinsekten, die einen Luftvorrat mit in die Tiefe nehmen, beruht auf dem Fehlen von Stickstoff als „Empfangsphase“ (s. unter Luftatmung).

Ein O₂-Druck von mehreren Atmosphären scheint für alle Organismen schädlich zu sein, besonders auch für frei lebende und parasitische Protozoen (Paramaecien, Ciliaten, Flagellaten usw.). Es gelingt so z. B., die parasitischen Darmprotozoen von Würmern, Insekten, Fischen und Fröschen durch einen O₂-Druck von über 3 Atmosphären während etwa einer Stunde selektiv abzutöten, während die Wirtstiere selbst bei diesem Druck erst nach vielen Stunden geschädigt werden. Die besonders empfindlichen Warmblüter werden dagegen eher als die von ihnen beherbergten Protozoen getötet (CLEVELAND 1925, COOK 1932). Bei den Säugetieren kommt es dabei zu einem Abfall der Körpertemperatur (bis zu 10°), was nach CAMPBELL (1937a, b) eine Schutzmaßnahme des Körpers darstellen soll: wurde sie durch erhöhte Außentemperatur (35°) verhindert, dann war die Giftwirkung des O₂ verstärkt. Es soll sich bei dem ganzen Vergiftungsbilde um eine exzessive und rapide Oxydation in den Nervenzentren handeln, die zur Anhäufung von Stoffwechselprodukten führt, und wobei die Schilddrüse, deren Entfernung die Giftwirkung abschwächt, eine wichtige Rolle spielen soll. Da nach unseren sonstigen Kenntnissen jedoch die Größe des Oxydationsvorganges unabhängig vom O₂-Druck ist (s. unten), muß hier wohl eher, entsprechend der Annahme von v. BUDDENBROCK (1924), ein qualitativ anderer Angriff des O₂ an der Zelle als Schädigungsursache in Betracht gezogen werden (s. dagegen v. BUDDENBROCK 1938).

Den Anaerobiern werden von v. BRAND und HARNISCH die *anoxybiotischen Organismen* gegenübergestellt, die ohne O₂, aber auch unter höheren O₂-Drucken existieren können, und zu ihnen die Darmparasiten, wie z. B. die erwachsenen Helminthen, gezählt.

Durch neuere Untersuchungen wurde nämlich beim Spulwurm (ADAM 1932, HARNISCH 1933a, KRÜGER 1936), bei den Bandwürmern *Moniezia* (ALT und TISCHER 1931) und *Diphylobothrium* (FRIEDHEIM 1933/34), beim Leberegel (HARNISCH 1932) bei Vorhandensein von O₂ einwandfrei

ein zum Teil recht beträchtlicher O_2 -Verbrauch dieser Parasiten nachgewiesen. Diese Tiere können trotz ihrer weitgehenden Anpassung an den O_2 -Mangel ihrer Umgebung nicht mehr als obligate Anaerobier bezeichnet werden, und es wird sogar die Frage erhoben, ob solche unter den Tieren überhaupt vorkommen (KRÜGER 1936). Nach DAVEY (1937/38) halten sogar die parasitischen Nematoden des Schafdarmes eine völlige Anoxybiose auch nicht länger aus wie andere Tiere (etwa 24—48 Stunden), selbst dann nicht, wenn die dabei ausgeschiedenen Stoffwechselprodukte stetig fortgeschafft werden. Völliger O_2 -Mangel ruft schon nach kurzer Zeit ebenso wie bei *Ascaris* (SLATER 1925) eine Bewegungslosigkeit hervor, die das notwendige Ankämpfen gegen die Darmperistaltik des Wirtes unmöglich macht. Und auch das Vorkommen von Hämoglobin und Zytochrom, das sonst nur bei anaeroben Bakterien fehlt (KEILIN 1925), soll für das Vorhandensein und die Notwendigkeit aerober Prozesse sprechen, worauf die in O_2 -haltigen Biotopen lebenden Jugendformen dieser Parasiten völlig angewiesen sind (wie z. B. die sich entwickelnden *Ascaris*-Eier). Nach v. BRAND und HARNISCH (s. auch v. BRAND und WEISE 1933) soll die Standardenergiegewinnung bei diesen Parasiten jedoch entsprechend der meist völligen Sauerstofflosigkeit ihres Milieus, auch bei eventuell vorhandenem O_2 anoxybiontisch sein; bei dem O_2 -Verbrauch soll es sich um akzessorische oxybiontische Prozesse („sekundäre Oxybiose“ nach HARNISCH 1935a, s. unten) zur Fortoxydation anoxybiontischer Stoffwechselprodukte handeln (v. BRAND 1934a, HARNISCH 1935b, 1937b).

c) Anpassungsarten (aktive und passive Anpassungen; eury- und stenoxybionte Organismen).

Die Anpassungen der Amphibionten, also aerober Lebewesen, an respiratorisch schlechte Medien können von zweierlei Art sein (ALSTERBERG 1922, HARNISCH 1927): Einmal *aktive Anpassungen*, die dem Organismus die Fortsetzung seiner oxybiontischen Energiegewinnung auch bei geringem Sauerstoffgehalt ermöglichen (wie z. B. besondere Atmungsorgane, Blutfarbstoffe usw.), und dann *passive Anpassungen*, die eine zeitweise Einstellung dieser oxybiontischen Prozesse ohne Schaden gestatten (Resistenz gegen O_2 -Mangel), die wir oben schon erwähnt haben. In der Regel treten aktive und passive Anpassungen in einem Organismus gleichzeitig auf. Der Fähigkeit der Ausnutzung auch noch eines sehr geringen O_2 -Gehaltes geht häufig die Fähigkeit der Notanaerobiose parallel, und umgekehrt trifft meist eine geringe Widerstandsfähigkeit gegen O_2 -Mangel mit einer Ausnutzungsfähigkeit nur eines hohen O_2 -Gehaltes zusammen. Dies ist vom ökologischen Standpunkt gut verständlich, da in Biotopen mit niedrigem O_2 -Gehalt auch sehr leicht ein völliger O_2 -Mangel auftreten kann (ALSTERBERG 1922).

Entsprechend der Anpassungsbreite an den O_2 -Gehalt der Umgebung hat man schließlich noch zwischen *euryoxybionten* und *stenoxybionten Organismen* (FEHLMANN 1917) unterschieden, d. h. zwischen solchen Lebewesen, die an ein Leben in Biotopen mit sehr verschiedenem O_2 -Gehalt angepaßt sind, und solchen, die auf einen Lebensraum mit eng umgrenztem O_2 -Gehalt beschränkt sind und nur dort die optimalen Lebensbedingungen finden. Je nach der Größe dieses O_2 -Gehaltes unterschied FEHLMANN, allerdings mit willkürlichen und uns auch hier nicht weiter interessierenden Grenzen, bei den stenoxybionten Organismen zwischen poly-, meso-, oligo- und anoxybionten Lebewesen, d. h. also solchen, deren optimale Lebensgrenzen an einen hohen, mittleren, niedrigen oder gar keinen O_2 -Gehalt gebunden sind. Bei diesen stenoxybionten Organismen gilt also für den O_2 dasselbe wie für stenöke, an irgendwelche anderen, eng umgrenzten Milieubedingungen gebundene Lebewesen, daß bei einem Milieufaktor ein „Zuviel“ ebenso wie ein „Zuwenig“ im allgemeinen gleichwertig mit einer Verschlechterung der Lebenslage ist (HESSE 1924, THIENEMANN 1931a).

Man findet nun in der Tat, besonders deutlich im Wasser mit seinen oft auf engem Raum zusammengedrängten Schichten verschiedenen O_2 -Gehaltes zahlreiche Organismen, deren Vorkommen an ganz bestimmte, nach oben und unten begrenzte O_2 -Konzentrationen geknüpft ist. Daß eine ganze Reihe an einen geringen O_2 -Gehalt angepaßter Tiere besonders in den O_2 -ärmsten Gebieten, in denen sie gerade noch fortkommen können, vorkommen, liegt wohl zum Teil daran, daß sie infolge ihrer besseren Anpassung an diese hier einen Vorteil vor anderen Organismen besitzen, den sie ausnützen. Es besteht jedoch auch sehr wohl die Möglichkeit, daß für sie ein höherer O_2 -Gehalt schon nicht mehr ein optimaler Umweltfaktor ist. Jedenfalls ist es in diesem Zusammenhange von Interesse, daß die im fließenden, O_2 -reichen Wasser lebenden Arthropoden (*Asellus*, *Baetis*, *Cloëon* usw.) gegen O_2 -Mangel empfindlicher waren und besonders auch einen höheren O_2 -Verbrauch besaßen als Tiere aus stehenden Gewässern (FOX und SIMMONDS 1932/35). Über ähnliche Beobachtungen bei Fischen s. CLAUSEN (1936), WASHBOURN (1936), bei Planarien s. BODE (1925); s. auch HUBAULT (1927). Andererseits beobachtete jedoch FEHLMANN, daß nicht alle in O_2 -reichem Wasser lebenden Tiere gleich empfindlich gegenüber O_2 -Mangel sind. Das Fehlen von bestimmten, an und für sich mit einem niedrigen O_2 -Gehalt auskommenden Organismen (z. B. *Corethra*-Larven) in O_2 -reicheren Biotopen (z. B. „*Tanytarsus*-Seen“) kann jedoch wohl nur durch die Annahme wirklich stenoxybionter Organismen erklärt werden.

Für Bakterien und Protozoen sind derartige, in bezug auf ihren O_2 -Gehalt nach oben und unten eng begrenzte Biotope direkt nachgewiesen worden (PÜTTER 1927). Der in fauligen Gewässern lebende Ciliat *Spirostomum* wird schon in luftgesättigtem Wasser abgetötet, sein O_2 -Optimum liegt bei 50 mm Hg (PÜTTER 1904). FOX (1921) beobachtete bei *Bodo sulcatus* (Flagellat) (THORPE 1932 bei *Polytoma wella*) eine sich während des Versuches verändernde Ansammlung der Tiere an bestimmten Stellen der Flüssigkeitsschicht zwischen Objektträger und Deckglas: zuerst in der Mitte, dann allmählich bis zum Deckglasrand in immer breiter werdenden Ringen abwandernd. Da eine Ansammlung von CO_2 als Ursache ausgeschlossen werden konnte, muß ein Nachwandern der Flagellaten zu einer für sie optimalen, sich unter dem Deckglas infolge ihres eigenen O_2 -Verbrauches jedoch

allmählich verschiebenden O_2 -Konzentration angenommen werden (Abb. 5). Das Maximum des Auftretens des Infusors *Loxodes rostrum* in Teichen fällt mit einem mittleren O_2 -Gehalt des Wassers von nicht mehr als 37% der maximalen O_2 -Sättigung zusammen, die Sättigung darf 50% nicht übersteigen, das Minimum des Vorkommens lag bei 1—9% O_2 -Sättigung (RYLOW 1923). — Die Macromonaden, farblose Schwefelbakterien, sind mikroaerophil, d. h. ihre optimale O_2 -Spannung liegt niedrig (unter 2,1 ccm und über 0,7 ccm pro Liter). Sowohl O_2 -reiches wie O_2 -armes Wasser ist für sie schädlich (UTERMÖHL 1925). Das O_2 -Optimum der Purpurbakterien (*Thiopedia*) und Chlorobakterien liegt noch tiefer. Auch diese Organismen sind

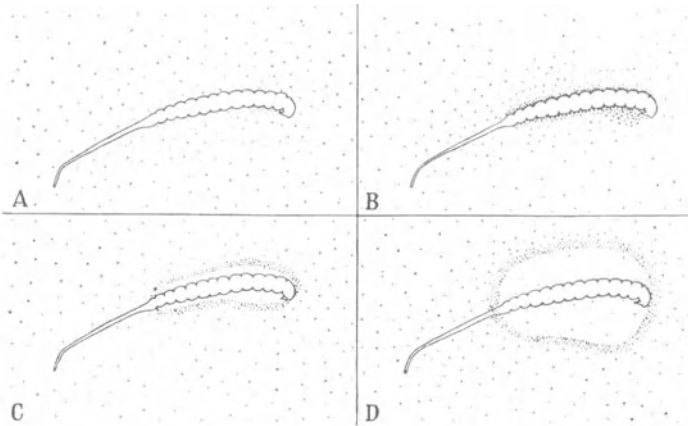


Abb. 5. Ansammlung von *Polythoma* (Flagellat) an Orten bestimmter Sauerstoffkonzentration, deren Lage sich infolge des O_2 -Verbrauches einer Larve von *Omorgus mut.* dauernd unter dem Deckglas ändert. Biologischer Nachweis O_2 -absorbierender Organe. A 6 Minuten, B 7 Minuten, C 10 Minuten, D 15 Minuten nach Versuchsbeginn (nach THORPE 1932).

streng stenoxybiont (GROTE 1934). Ähnliche Beobachtungen konnten von UTERMÖHL auch bei Cyanophyceen und Flagellaten gemacht werden. Über einen Einfluß der Ernährungsbedingungen auf den optimalen O_2 -Wert für Knöllchenbakterien („mesoaerob“) berichtet ZYCHA 1932. Weitere Beispiele stenoxybionter Organismen finden sich in dem folgenden Abschnitt über Oxygenotaxis.

Eine etwas andere Definition ist von v. BRAND und HARNISCH 1933 den Begriffen „euroxybiontische“ und „stenoxybiontische“ Organismen gegeben worden. Zu den ersteren werden Lebewesen gezählt, die lange oder sogar dauernd bei O_2 -Mangel die notwendige Energie anoxybiontisch gewinnen können. Stenoxybiontische Lebewesen dagegen sind solche, die einen O_2 -Mangel nicht für längere Zeit aushalten können, weil nicht genügend anoxybiontische Prozesse möglich oder weil dieselben mit Schädigungen des Organismus verbunden sind. Meiner Ansicht nach wird bei dieser Definition und Einteilung zuviel Wert auf die Fähigkeit der Organismen, sich einem niedrigen O_2 -Gehalt anzupassen, gelegt, während die in dem Begriff „stenök“ auch enthaltene Milieubegrenzung nach oben und unten nicht genügend zur Geltung kommt.

III. Einfluß des Sauerstoffgehaltes auf das Verhalten der Organismen.

a) Oxygenotaxis.

Nachdem im vorhergehenden der verschiedene O_2 -Gehalt der einzelnen Lebensräume besprochen und auf das verschiedene O_2 -Bedürfnis der Organismen hingewiesen wurde, ist nun im folgenden über die Reaktionen und Anpassungen der Lebewesen auf den O_2 als Umweltfaktor, d. h. darüber zu berichten, wie die einzelnen Organismen ihr O_2 -Bedürfnis mit dem O_2 -Gehalt in ihrer Umgebung und eventuellen Änderungen desselben in Einklang bringen. Was zunächst den *Einfluß des O_2 -Druckes auf das Verhalten der Organismen* betrifft, so kann man bei vielen, besonders natürlich den stenoxybionten, freibeweglichen Lebewesen beobachten, daß sie Orte mit einem anderen O_2 -Gehalt als den, für den sie irgendwie angepaßt sind, meiden oder sich von ihm fortbewegen, und sich an dem Ort mit dem für sie optimalen O_2 -Gehalt ansammeln.

Zu den schon erwähnten Beispielen seien hier noch weitere angeführt: gewisse, die Oberfläche des praktisch O_2 -losen Schlicks der Kieler Förde bewohnende Polychäten (*Stylarioides plumosus*) siedeln immer nur an eng umgrenzten Stellen, wo eine stärkere Strömung ständig frisches, O_2 -reiches Wasser den Kiemenzirren am Kopf zuführt. Es sei noch darauf hingewiesen, daß die mit einem großen Teil ihres Körpers in dem O_2 -losen Schlamm steckenden Polychäten wohl als Schutz gegen eine O_2 -Abgabe durch die Haut eine sehr dicke Kutikula und eine noch dickere Schleimhaut besitzen (SCHLIEFER 1927). — Besonders deutlich wird diese Fluchtreaktion schließlich bei der festsitzenden *Vorticella nebulifera*, bei der durch O_2 -Mangel die Bildung des unteren Wimperkranzes und die Loslösung vom Stiel, d. h. die freischwimmende Form, hervorgerufen wird (MOLDAVSKAJA 1937). Ein Wiederfestsetzen findet nur bei genügendem O_2 -Gehalt des Wassers (z. B. am Deckglasrand oder außerhalb desselben) statt.

Die Organismen müssen also irgendwie die Fähigkeit besitzen, die betreffende O_2 -Konzentration ihrer Umgebung wahrzunehmen und auf diesen Reiz hin zu reagieren. Man spricht bei Tieren (meist sind es Wassertiere), bei denen der O_2 als Reiz zu lokomotorischen Richtungs- bewegungen Anlaß gibt, von einer *Aero-* oder wohl richtiger *Oxygenotaxis* (JENSEN 1893, HERTER 1927, BEUTLER 1933). Dabei handelt es sich jedoch bei weitem nicht in allen Fällen, in denen bei O_2 -Mangel ein Biotop verlassen wird, um eine echte Oxygenotaxis. Dazu gehört (BEUTLER 1933), daß der O_2 bei der Herstellung des die Taxis auslösenden Reizgefälles in der Umgebung des betreffenden Organismus beteiligt ist, und daß entweder wirklich eine Wanderung direkt dem O_2 -Konzentrationsgefälle entgegen stattfindet (wie es bei *Hydra* z. B. tatsächlich der Fall zu sein scheint) oder aber durch viele ungerichtete Einzelreaktionen, nach der Methode von Versuch und Irrtum eine optimale Zone erreicht wird (KÜHN 1919). Von BEUTLER sind an dem Beispiel von *Hydra* die Reaktionsmöglichkeiten auf O_2 -Mangel, die zu

Verwechslungen mit einer echten Oxygenotaxis führen können, eingehend untersucht worden.

Es ist zunächst zu unterscheiden, ob es sich nicht etwa *nur* um eine negative Chemotaxis gegenüber Stoffwechselprodukten (besonders auch CO_2) oder um eine einfache *Fluchtreaktion* infolge des O_2 -Mangels handelt (die natürlich neben einer Oxygenotaxis bestehen kann, wie es das oben erwähnte Beispiel von *Vorticella* zeigt). Bei *Hydra* fand sogar eine Wanderung entgegen dem O_2 -Konzentrationsgefälle auch dann statt, wenn in der Umgebung selbst gar kein starker O_2 -Mangel herrschte. Es ist dies bemerkenswert, da die Hydren nicht einmal empfindlich gegen O_2 -Mangel sind und durch ihn nicht leicht geschädigt werden.

Es müssen ferner Reaktionen abgetrennt werden, die mit einer Oxygenotaxis direkt nichts zu tun haben, die jedoch im Wasser unter den gewöhnlichen Bedingungen in der Natur zu demselben Enderfolg führen, nämlich den Organismus in eine besonders O_2 -reiche Umgebung zu bringen: an die Wasseroberfläche oder in Gegenden, wo infolge eines starken Pflanzenwuchses reichlich O_2 gebildet wird. Es ist dies das Vorhandensein einer *negativen Geotaxis* und einer positiven Phototaxis und besonders ein bei O_2 -Mangel oder CO_2 -Anreicherung auftretendes Umschlagen einer positiven Geotaxis in eine negative oder einer negativen Phototaxis in eine positive. Eine derartige negativ geotaktische, aufwärtsgerichtete Wanderung bei O_2 -Mangel ist nicht selten zu beobachten. So wird, um nur einige Beispiele zu nennen, durch O_2 -Mangel bei *Holothuriern* (WINTERSTEIN 1909), bei *Aeschna*-Larven (WALLENGREN 1944b), bei *Nepiden* (BAUNACKE 1912), bei *Echinodermen* (LÖB 1891, BAGLIONI 1905, MANGOLD 1909), bei *Pisidien*, *Naiden* und *Tubificiden* (ALSTERBERG 1924) eine negative Geotaxis ausgelöst. Möglicherweise handelt es sich auch bei dem An-die-Wasseroberfläche-Schwimmen der Fische und Krebse zur „Notatmung“ um eine durch O_2 -Mangel ausgelöste negative Geotaxis. Dabei kann, wie z. B. bei *Tubifex*, noch eine echte Oxygenotaxis daneben vorhanden sein; bei diesen in einem O_2 -losen Schlamm wohnenden Würmern wird zum Aufwärtswandern im Schlamm jedoch in erster Linie die negative Geotaxis als Wegweiser benutzt, die zuverlässiger wirkt als die bei völligem O_2 -Mangel ja versagende Aerotaxis (ALSTERBERG 1924). Die Luft atmenden *Planorbiden* bringt bei O_2 -Mangel eine negative Geotaxis an die Wasseroberfläche zum Luftfüllen der Lunge (PRECHT 1936), die schwerfälligen, landbewohnenden Lungenschnecken *Limax* und *Arion* werden durch diese unter Wasser auftretende Reaktion vor einem Weiterkriechen ins Wasser bewahrt, oder es wird ihnen bei Überschwemmungen so ein Weg aus dem Wasser gezeigt (BAUNACKE 1913). Auch das im Gegensatz zu dem sonstigen Verhalten der Wurzeln nach aufwärts gerichtete Wachstum der Atemwurzeln gewisser Mangrovepflanzen, die in einem sehr O_2 -armen Schlamm wachsen, ist durch einen negativen Geotropismus bedingt (KARSTEN 1891, BERGMANN 1920).

Die stark *positive Phototaxis* der Larven von *Chironomus gregarius* vor dem 2. Häutungsstadium soll sich nach PAUSE (1919) sogar aus dem primär vorhandenen Sinn, stark belichtete Pflanzenteile wegen des O_2 -Reichtums in deren Umgebung aufzusuchen, entwickelt haben (s. auch PHILLIPP 1938). Allerdings soll es sich nach ALSTERBERG (1924) dabei nur um ein Orientierungsmittel während des Aufsuchens eines richtigen Bodensubstrates handeln. Zur gleichen Zeit jedoch, wo die Tiere durch die Entwicklung von Hämoglobin von niedrigen O_2 -Drucken unabhängiger werden und außer dem eine vielfach längere Zeit ohne O_2 auszukommen vermögen, schlägt die positive Phototaxis in eine ebenso starke negative um. In diesem

Zusammenhänge zu erwähnen ist schließlich noch die Umstimmung einer negativen Phototaxis bei niederen Crustaceen in eine positive Lichtreaktion, die allerdings nicht durch O_2 -Mangel, sondern durch CO_2 ausgelöst wird (Literatur bei SEIFERT 1932).

Bei O_2 -Mangel kann man ferner beobachten, daß im Erdboden, [z. B. Regenwürmer nach dem Regen (MERKER 1928 b, 1931)], im Schlamm [*Tubifex* (ALSTERBERG 1924), *Chironomiden*-Larven (PAUSE 1919)] oder auch in Röhren lebende Tiere [*Spirographis* (BOUNHIOL 1902), Köcherfliegenlarven (FEHLMANN 1917)], ihren Wohnort, bzw. ihre Röhre verlassen. Interessanterweise überlebt dabei *Spirographis* einen O_2 -Mangel in den Röhren länger als außerhalb derselben, weil dann die Wassererneuerung durch die rhythmischen Bewegungen des Wurms in den Röhren fehlt (FOX 1938). Bei *Tubifex* ist diese Reaktion besonders eingehend untersucht worden (ALSTERBERG 1924). Danach handelt es sich dabei um eine bei O_2 -Mangel ins Negative umschlagende *Kontaktreizbarkeit* gegenüber dem Schlamm (*negative Tigmotaxie*); der bei Vorhandensein von genügend O_2 dagegen positive Kontaktsinn führt zu einem Einbohren der Würmer in den Schlamm. Möglicherweise werden die ähnlichen Reaktionen der anderen oben erwähnten Organismen auch nur durch modifizierte Kontaktreaktionen und nicht durch eine wahre Oxygenotaxis ausgelöst. Das Aufsuchen der O_2 -reicheren Wasseroberfläche von *Corixa* beim Luftschöpfen ist nach BOTJES (1932) ebenso wie die gleiche Reaktion bei *Notonecta* (BOTH 1934) keine Oxygenotaxis, sondern wird durch die Perzeption einer Volumverringerng des an dem Körper dieser Tiere haftenden Luftvorrates, also einer Abnahme des Auftriebes hervorgerufen.

Bei *Hydra* konnte eine noch von HAASE-EICHLER 1934 angenommene, durch O_2 -Mangel oder CO_2 -Anreicherung ausgelöste negative Geotaxis von BEUTLER ausgeschlossen werden. Es muß sich bei dem Aufsuchen O_2 -reicher Orte tatsächlich um eine Wahrnehmung des O_2 -Konzentrationsgefälles und um eine sichere Unterscheidung des O_2 von anderen Gasen handeln. Es ist dabei von Interesse, daß die symbiontische Algen enthaltende *Chlorohydra viridissima* ebenso wie die auf grünen Pflanzen sitzende braune Hydra auf eine O_2 -haltige Gasblase nur im Dunkeln zuwandert.

Auch bei den Tubificiden kommt nach ALSTERBERG (1922/24) neben den obenerwähnten geo- und tigmotaktischen Bewegungen eine wirkliche Oxygenotaxis und ein Oxygenotropismus vor. *Tubifex* und *Limnodrilus* bringen nämlich ihr aus dem Schlamm ragendes Hinterende mit der Afteröffnung (Darmatmung!) durch Verlängerung oder Verkürzung in eine Wasserschicht, deren O_2 -Konzentration ihren respiratorischen Anforderungen entspricht. Eine Geotaxis spielt dabei keine Rolle. Bei seitlicher Zuführung des O_2 zeigt *Limnodrilus* im Zustand der Dyspnoe durch eine äußerst scharf ausgeprägte, positiv aerotrope Reaktion die Richtung des O_2 -Diffusionsgefälles an: der Hinterleib wird ziemlich genau in der Richtung des O_2 -reichen Wassers ausgestreckt. Auch die Gänge im Schlamm werden stets in der Richtung zur O_2 -reichsten Seite hin gebohrt. Wird der O_2 -Gehalt der erreichbaren Wasserschicht zu gering (bei etwa 1,1 ccm pro Liter), wandern *Tubifex* und *Limnodrilus*

auf Grund der veränderten Tigmotaxis aus und versuchen, höhere, O₂-reichere Wasserschichten zu erreichen.

Reaktionen auf O₂ sind schließlich bei vielen Bakterien bekannt geworden (Literatur bei BEUTLER); manche Schwefelbakterien, wie z. B. *Beggiatoa*, suchen dabei eine ganz bestimmte (nicht die höchste!) O₂-Konzentration auf (BENECKE und JOST 1923), ebenso wie es oben schon von einigen Flagellaten beschrieben wurde. Dies gute Unterscheidungsvermögen der stenoxybionten Bakterien und Flagellaten für verschiedene O₂-Konzentrationen und ihre prompte Reaktion darauf wird direkt zur Demonstration des bei der Assimilation grüner Pflanzenteile freiwerdenden O₂ („ENGELMANNsche Bakterienprobe“) und zum Nachweis der Atmungsfunktion tierischer Organe benutzt (Einwände dagegen siehe KOCH 1934). Infolge der stärkeren O₂-Aufnahme bilden sich in der Umgebung der Atmungsorgane Zonen niedrigen O₂-Gehaltes, die in der Regel von den Flagellaten zuerst bevorzugt, bei stärkerer Zunahme des O₂-Schwundes jedoch gemieden werden, „BEJERINCKsche Atmungsfigur“ (FOX 1921, THORPÉ 1932, DEJDAR und GICKLHORN 1932, s. auch PRINGSHEIM 1921, VERWORN 1915).

Auch das scharf umgrenzte, schichtenweise Vorkommen von Makrozoen, Purpurbakterien, Chlorobakterien, Cyanophyceen und Flagellaten in Seen während der Stagnationsperiode ist nach UTERMÖHL auf das Vorhandensein einer Aerotaxis zurückzuführen. Oxygenotaktische Reaktionen konnten ferner bei *Myxomyceten* (STAHL 1884), bei der Teichschnecke *Physa* (DAWSON 1911), beim Brotkäfer *Sitodrepa* (JANISCH 1925) und bei Igelhohlarven (SGONINA 1935) nachgewiesen werden.

Wieweit es sich bei der merkwürdigen Gewinnung der Atemluft gewisser Wasserinsekten (wie z. B. *Elmis*, *Hydrocampha*-Larven, *Bagous subcarinatus*, *Macropilea*-Käfer) durch Abfangen der O₂-Bläschen assimilierender Pflanzen oder durch Aufnagen luftgefüllter pflanzlicher Intercellularen um eine zufällige Luftgewinnung (z. B. beim Nahrungserwerb) handelt, oder ob dabei eventuell eine Aerotaxis eine Rolle spielt, ist meines Wissens noch nicht untersucht worden. Dasselbe gilt für das Anzapfen des Tracheensystems der Wirtsinsekten durch die parasitisch lebende Tachinide *Gymnozoma*. Die Larven von *Donacia* und *Mansonia* haben sogar besonders modifizierte Atmungsanhänge, die sie in den Luftgang der Wurzeln von Wasserpflanzen einbohren können (WINTERSTEIN 1921, WIGGLESWORTH 1931, RUTER 1937).

Sicherlich besitzen auch noch höher organisierte Wassertiere die Fähigkeit der Wahrnehmung des O₂-Gehaltes ihrer Umgebung und oxygenotaktischer Reaktionen. Ihr oft an ganz bestimmte O₂-Konzentrationen gebundenes Vorkommen (s. auch im Schluß) spricht sehr dafür, wobei natürlich niemals außer acht gelassen werden darf, daß dabei auch andere, sich mit dem O₂-Gehalt gleichzeitig ändernde Milieufaktoren eine Rolle spielen können. Es können unter Umständen auch nur die Nahrungsorganismen sich auf eine Schicht bestimmten O₂-Gehaltes einstellen und so eine wirkliche Oxygenotaxis vortäuschen (BIRGE und JUDAY 1912, s. dagegen WUNDER 1932). Bei gewissen Fischen

scheinen jedoch echte Reaktionen auf einen verschiedenen O_2 -Gehalt vorzukommen (PEARSE und ACHTENBERG 1921). Nach SHELFORD und ALLEE (1913 a, b) ist die Reaktion auf verschiedene CO_2 -Konzentrationen allerdings meist noch größer, am deutlichsten jedoch auf eine mit einem O_2 -Mangel verbundene CO_2 -Anreicherung, so wie es auch in der Natur gleichzeitig vorkommt.

Von BEUTLER wird die Frage, wie von den Organismen überhaupt ein verschiedener O_2 -Gehalt wahrgenommen werden kann, ob durch besondere Sinneszellen oder durch eine allgemeine Wahrnehmung der Körperzellen für „wenig oder viel nicht völlig oxydierter Stoffwechselprodukte in der Umgebung“ oder „guter bzw. schlechter Verlauf der Oxydationsprozesse“ offengelassen. Es wird später bei der Besprechung der Atmungsregulation auf diese Frage noch näher eingegangen werden.

b) Tierwanderungen.

Wie eben schon erwähnt, verläßt *Tubifex* und *Lumbriculus* bei zu starkem O_2 -Mangel den Schlamm und sucht ein O_2 -reicheres Biotop auf. Die Tiere kriechen dann an der Glaswand des Gefäßes etwas der Wasseroberfläche entgegen, und auch im Freien findet man sie manchmal im Wasser an Zweigen usw. über der Schlammoberfläche angeheftet (ALSTERBERG 1922/24). Derartige *Tierwanderungen*, die durch mehr oder weniger langsame Veränderungen des O_2 -Gehaltes eines Biotops bedingt sind, zeigen besonders deutlich das O_2 -Wahrnehmungsvermögen dieser Organismen.

So verlassen bei O_2 -Mangel auch andere, die oberflächlichste Schlamm-schicht besiedelnde Lebewesen diesen Lebensraum. Organismen, wie *Beggiatoa*, Purpurbakterien usw., die auf eine gewisse niedrige O_2 -Konzentration eingestellt sind (s. oben), wandern dann aus dem Schlamm bis in Wasserschichten mit passender O_2 -Konzentration, die sich diffus trüben und je nach der Bakterienart gelblich oder stark rotviolett färben können. Auch gewisse farblose Schwefelbakterien wandern, in eng umgrenzten Zonen sich ansammelnd, aufwärts [„Bakterienplatte (OMELIANSKY 1904/07 nach ALSTERBERG 1922, s. besonders auch UTERMÖHL 1925, LIEBMANN 1938)]. — Vielleicht ist hier als weiteres Beispiel noch die weiter unten ausführlich behandelte Beobachtung zu erwähnen, daß Fische, Krebse, Insekten usw. bei stärkerem O_2 -Mangel zur „Notatmung“ an die Wasseroberfläche kommen. — Sinkt der O_2 -Gehalt nur in begrenzten Wasserschichten, so wandern die dort lebenden Fischarten in O_2 -reichere Gegenden aus. So beobachtete z. B. WIESE (1935), daß die sonst wegen des kühlen und O_2 -reichen Wassers in der Seentiefe lebende große Maräne (*Coregonus lavaretus*) bei O_2 -Mangel diese verließ und sich dann in höheren, O_2 -reicheren, wenn auch wärmeren Wasserschichten an der oberen Grenze des Metalimnions aufhielt. Der O_2 -Gehalt scheint für die Fische ein sehr starker, wenn nicht ausschlaggebender Reiz zur Ortsveränderung zu sein, wenn er an die untere Grenze des für die betreffende Art nötigen Betrages absinkt. Bei höheren O_2 -Konzentrationen, hauptsächlich in der Nähe der Luftsättigung des Wassers, ist dies jedoch sehr unwahrscheinlich (SCHEURING 1930). Es ist in diesem Zusammenhange

von Interesse, daß nach PEARSE und ACHTENBERG (1921) Barsche (*Perca flavescens*), solange das Tiefenwasser nicht stagniert, in diesem leben, bei O₂-Mangel jedoch in höheren Wasserschichten anzutreffen sind, also die Fähigkeit der Wahrnehmung des O₂-Gehaltes des Wassers besitzen; trotzdem gehen sie von dort, wenn auch nur für kurze Zeit, und zwar zur Nahrungssuche, in diese tieferen, fast O₂-freien Wasserschichten zurück.

Auch die merkwürdigen Wanderungen, die von manchen Fischen, wie z. B. dem Lachs, zur Laichablage ausgeführt werden, hat man durch Reaktionen der betreffenden Fische auf den O₂-Gehalt zu erklären versucht. Unbestreitbar ist die Tatsache, daß diese Tiere zur Zeit der Geschlechtsreife ein physiologisch ganz besonders O₂-reiches Wasser aufsuchen, wo für die Entwicklung ihrer Eier optimale Bedingungen herrschen. So ist die Richtung des Lachsaufstieges im großen und ganzen immer nach höheren O₂-Konzentrationen hin orientiert. Nach CLEVEY, ROULE u. a. 1927 findet ein Aufstieg nur in solchen Flüssen statt, deren O₂-Gehalt höher als 7 ccm pro Liter bei 7—12° ist, und wo an der Mündung der O₂-Gehalt des Wassers in der Mischzone höher ist als im Salzwasser des Meeres. Bei Abnahme des O₂-Gehaltes eines Flusses (Dordogne) auf 6 ccm pro Liter ging auch der sonst reiche Lachsaufstieg zurück. Von SCHEURING (1930) wird jedoch darauf hingewiesen, daß die Lachse auch stark verunreinigtes, also O₂-armes Wasser (z. B. durch Abwässer in der Nähe von Städten) durchschwimmen, und daß oft klare, O₂-reiche Nebenflüsse vermieden werden und der trübe, O₂-ärmere Hauptstrom beibehalten wird. Der Lachsaufstieg kann also, wenn überhaupt, nicht ausschließlich durch das O₂-Konzentrationsgefälle geleitet werden. Möglicherweise spielen die Strömungsreize dabei die Hauptrolle.

c) Atmungsregulation.

Wenn ein Aufsuchen eines geeigneten Atmungsmediums nicht stattfindet, also z. B. im Beginn des O₂-Mangels, bei festsitzenden Organismen, wenn die Verhältnisse im ganzen erreichbaren Lebensraum dieselben sind usw., kann man bei verschlechterten Atmungsbedingungen des Mediums eine Zunahme des Atem-Minutenvolumens (Ventilationsvolumens) beobachten. Dies kann durch eine Steigerung der Atemfrequenz oder eine Vertiefung der einzelnen Atemzüge oder schließlich durch beide Faktoren hervorgebracht werden. Durch eine vermehrte Heranschaffung der O₂-enthaltenden Medien an die Gasaustauschfläche des betreffenden Organismus wird versucht, die gleiche absolute Menge O₂ für den bei den meisten Tieren innerhalb gewisser Grenzen unverändert gleichbleibenden O₂-Verbrauch des Organismus (s. unten) heranzuschaffen. Es findet so eine *Regulierung der Atmung*, eine Einpassung der O₂-Bedürfnisse an die veränderten O₂-Verhältnisse des Mediums statt. Ein anderer Weg zu dieser Einpassung ist schließlich noch dadurch gegeben, daß der O₂ des mit dem Atmungsepithel in Berührung kommenden

Atmungsmediums durch den Organismus in erhöhtem Maße ausgenutzt wird, worauf weiter unten einzugehen sein wird¹.

Nur bei wenigen Tieren scheint eine Atmungsregulation zu fehlen. Dafür mögen als Beispiele einige Crustaceen (*Balanus balanoides*, *Chirocephalus*, *Ligia oc.*, *Anilocra*, *Carcinus maenas*) genannt werden, bei denen weder durch O₂- noch durch CO₂-Änderungen eine Beschleunigung der Atmungsbewegungen hervorgerufen werden konnte (FOX und JOHNSON 1934, JOHNSON 1936). Möglicherweise kommt es bei ihnen jedoch zu einer erhöhten O₂-Ausnutzung des Wassers (s. unten).

Bei der Atmungsregulation bedarf es ebenfalls einer genauen Untersuchung, ob tatsächlich der verschiedene O₂-Gehalt der Umgebung als alleinige Ursache dabei in Betracht kommt. Die Abnahme des O₂-Gehaltes selbst muß, zum mindesten bei den Organismen, die ihren O₂-Verbrauch auch bei verringertem O₂-Druck bis zu einer bestimmten Grenze aufrecht erhalten können, zu einer Atmungsregulation führen. Bei der Atmung handelt es sich aber nicht nur um ein Heranbringen des notwendigen O₂, sondern auch um eine ausreichende Fortschaffung des gasförmigen Oxydationsproduktes, der CO₂, aus dem Körper, einen für den Ablauf der normalen Lebensprozesse sicher ebenso wichtigen Vorgang. Es ist daher untersucht worden, wie weit auch die CO₂ als Reiz für die Atemregulierung neben dem O₂-Mangel in Betracht kommt, und ob vielleicht bei Vorhandensein beider Regulationen eine gemeinsame Ursache festzustellen ist.

Von den höheren Wirbeltieren ist seit langem bekannt, daß hier die CO₂ sogar als wichtigster regulierender Atemreiz in Betracht kommt (ZUNTZ 1897)². Durch O₂-Mangel wird die Atmungsregulierung erst viel langsamer, wohl nach Bildung saurer, nicht völlig oxydierter Stoffwechselprodukte in Gang gebracht. Nach der Reaktionstheorie von WINTERSTEIN (1923) ist dabei der gemeinsame Faktor die Zunahme der Säuerung, der H-Ionenkonzentration im nervösen, die Atembewegungen regulierende Zentrum in der Medulla oblongata. Besonders wenn beide Faktoren, O₂-Mangel und CO₂-Anreicherung, eine ähnliche Atemwirkung haben und sich verstärken, ist wohl anzunehmen, daß beide Wirkungen auf denselben Mechanismus zurückführbar sind.

Es ist bemerkenswert, daß als Anpassung an eine besondere Lebensweise, so z. B. bei den Tauchvögeln (Ente), diese Verhältnisse modifiziert sein können: hier ruft nur O₂-Mangel eine Atmungsbeschleunigung hervor, CO₂ dagegen hemmt auch in kleinen Konzentrationen die Atmung. Es handelt sich dabei um eine periphere Lungenwirkung der CO₂, die

¹ Daß diese Regulationen nicht nur bei einer Verschlechterung der Atmungsverhältnisse der Umwelt, sondern auch bei einem Mehrbedarf des Organismus an O₂, also z. B. bei Muskelarbeit, in Tätigkeit treten, sei hier nur kurz erwähnt.

² S. dagegen die Untersuchungen von ZAEPER (1938), nach denen, besonders bei körperlichen Leistungen, der O₂ und der O₂-Bedarf des Organismus (Mensch) für die Atmungsregulation die bedeutendste und oft die allein führende Rolle spielen soll.

direkte Einwirkung derselben auf das Atemzentrum (auf dem Blutwege) ruft die übliche Atemsteigerung hervor (ORR und WATSON 1913, WINDLE und NELSON 1938, s. auch unten). Von IRVING (1939) wird auf die Möglichkeit hingewiesen, daß bei den tauchenden Warmblütern die Atmungsregulation mehr von den Chemorezeptoren der Aorta und der Carotidensinus als von dem medullären Atemzentrum ausgeht; diese Chemorezeptoren scheinen auch sonst bei den Wirbeltieren eine wichtige Rolle bei der Regulierung der Atmung durch O_2 -Mangel zu spielen (BENZINGER u. a. 1938, SMITH 1939).

Auch bei auf dem Land lebenden Evertebraten (Landschnecken, Insekten und Spinnen) kann die Ventilations- oder die Diffusionsregulierung (Weite der Lungenöffnung oder der Stigmen) durch CO_2 -Anhäufung ausgelöst werden (v. BUDDENBROCK und v. ROHR 1922, DAHR 1924, HAZELHOFF 1926, JORDAN 1927, DEMOLL 1927, STAHN 1928, YSSELING 1930, WIGGLESWORTH 1931, 1935). Ein überwiegender Einfluß der CO_2 bei der Atmungsregulation der Luftatmer wird nach JORDAN und GUITTART (1938) dadurch verständlich, daß einmal in der Luft (im Gegensatz zum Wasser) O_2 und CO_2 mit der gleichen Leichtigkeit ausgetauscht werden können, „so daß einer der beiden Stoffe die Ventilation auch des anderen (bis zu einer gewissen Grenze der Stoffwechsellhöhe) regulieren kann“. Andererseits ist „die Wahrscheinlichkeit unzureichender O_2 -Spannung bei in der Luft lebenden Tieren gering“ (s. oben). Die Regulierung soll hier hauptsächlich eine CO_2 -Anhäufung infolge mangelnder Ventilation oder infolge Mehrproduktion bei gesteigerter Arbeit vermeiden. Der O_2 -Mangel in der Höhe kann von diesen Organismen daher nicht durch eine einfache Atemsteigerung kompensiert werden, da damit gleichzeitig die atmungsregulierende CO_2 aus dem Blut entfernt wird (siehe z. B. FLEISCH 1932).

Bei niederen Tieren (Fischen und Evertebraten) hat man lange Zeit angenommen (BETHE 1925), daß hier der die Atmung regulierende Faktor nur der O_2 -Druck sei. Besonders bei Wassertieren würde dies verständlich sein, da im Wasser wegen des geringen absoluten O_2 -Gehaltes und wegen der soviel größeren Löslichkeit der CO_2 im Verhältnis zum O_2 ¹ ein O_2 -Mangel ohne nennenswerte Zunahme des CO_2 -Druckes auftreten kann und daher die CO_2 als Atemreiz nicht genügen würde². Ein höherer CO_2 -Druck kommt in natürlichen Gewässern auch kaum vor. Doch auch bei einer ganzen Anzahl von Wassertieren konnte nachgewiesen werden, daß die CO_2 als regulierender Atmungsfaktor mit in Betracht kommt.

¹ In 1 Liter Wasser lösen sich etwa 500 ccm CO_2 . Bei gleichem prozentualen Gehalt ist der O_2 -Druck im Wasser etwa 30 mal größer als der CO_2 -Druck.

² Es ist in diesem Zusammenhange von Interesse, daß es bei einer Reihe von Fischen ebenso wie bei einigen anderen Wassertieren in besonders O_2 -reichem Wasser wegen der dort auftretenden Reduktion des Atemminutenvolumens sogar zu einer Retention von CO_2 kommen kann (v. BUDDENBROCK 1938).

So konnte durch CO_2 eine gesteigerte Atmungstätigkeit bei folgenden Wasserorganismen ausgelöst werden: bei einer großen Anzahl von Fischen (OLTHOFF 1934, WILLMER 1934, VAN DAM 1938), bei Tunicaten (HYKES 1926), bei Cephalopoden (WINTERSTEIN 1925), bei Wasserinsekten (BOTJES 1932), Libellenlarven (STAHN 1928, s. dagegen BABAK und FOUSTKA 1907) und bei verschiedenen Crustaceen [z. B. bei *Gammarus* (FOX und JOHNSON 1934), *Squilla mantis* (MATULA 1912, JOHNSON 1936)]. Nach v. MITIS (1935) erfolgt das bei vielen Wasserkäfern zur Wassererneuerung in der Umgebung der Tiere dienende, periodische Schlagen mit den Schwimmbeinen mit um so kürzeren Ruhepausen, je CO_2 -reicher die das Tier umgebende Lufthülle oder je O_2 -ärmer das Wasser ist. Auch die „Notatmung“ der Fische kann außer durch O_2 -Mangel (0,7 ccm pro Liter) durch eine Erhöhung der CO_2 -Konzentration (4—5 %) ausgelöst werden, wobei beide Reize sich in ihrer Wirkung gegenseitig verstärken können (DIJKSTRA 1933).

Da das O_2 -Bindungsvermögen des Hämoglobins, worauf unten noch näher eingegangen wird, bei einer ganzen Reihe von Fischen durch CO_2 stark herabgesetzt wird, wird von VAN DAM (1938) (s. auch LEINER 1938) angenommen, daß möglicherweise die CO_2 -Wirkung bei den Fischen, wenigstens zum Teil auf einen O_2 -Mangel zurückführbar ist. Dafür sprach, daß die Atmungssteigerung durch die CO_2 in den Versuchen bedeutend geringer war als die durch den O_2 -Mangel hervorgerufene, daß sie nicht bei allen Tieren auslösbar war, und daß die O_2 -Ausnutzbarkeit stark herabgesetzt war.

Daß dabei häufig die CO_2 -Spannung selbst und nicht der p_H -Wert des Wassers die ausschlaggebende Rolle spielt, braucht nicht mit der WINTERSTEINschen Reaktionstheorie in Widerspruch zu stehen, da die CO_2 -Moleküle durch die Kiemenoberfläche ebenso wie durch andere lebende Zelloberflächen, und besonders auch durch die Chitinmembran der Insekten (STAHN 1928), sehr viel leichter hindurchdringen als H-Ionen. Im Blut, im Zellinneren werden dann aus der gebildeten H_2CO_3 H-Ionen frei (DIJKSTRA 1933, OLTHOF 1934, WILLMER 1934).

Bei einer ganzen Reihe von Organismen, besonders auch bei niederen Wassertieren, wurde jedoch tatsächlich ein CO_2 -Einfluß auf die Atmungsregulierung vermißt: nur der O_2 -Mangel wirkt atmungsbeschleunigend.

So beobachteten FOX und JOHNSON (1934), daß bei den Isopoden (*Asellus aq.*) die Atembewegungen nur durch Veränderungen des O_2 -Gehaltes beeinflußt werden konnten, und auch bei *Astacus fluviatilis* erzielten sie nur durch Herabsetzung der O_2 -Spannung im Außenmedium eine Frequenzsteigerung der Atembewegungen der Scaphognathiten, die nach JORDAN und GUITTART (1938) bis zu einem O_2 -Gehalt von etwa 0,5 ccm pro Liter zur Erhaltung des ursprünglichen Stoffwechselliveaus ausreichte (s. a. LINDROTH 1938). PETERS (1938) fand dagegen auch bei *Astacus* eine Steigerung der Atmungsfrequenz durch CO_2 ; nach JORDAN und GUITTART sollen jedoch weder die CO_2 , die auch in ihren Versuchen die Atmung nicht beeinflußte, noch der O_2 -Mangel als normale Atmungsreize angesehen werden können, da bei O_2 -Überschuß auch keine Atmungsverlangsamung oder Apnoe eintrat (s. dagegen SEGAAR 1934/35).

Die bei diesen Versuchen sich ergebenden, zum Teil widersprechenden Versuchsergebnisse verschiedener Autoren (z. B. SEGAAR, SCHLIEPER und PETERS, PETERS, JORDAN und GUITTART) sind wohl größtenteils durch die Schwierigkeiten der Versuche erklärbar, da die Fesselung der Tiere z. B. schon an sich bei vielen Tieren eine maximale Atmungssteigerung bewirkt; CO_2 wirkt oft nur in schwachen Dosen atmungsanregend, in großen Dosen dagegen lähmend. Dasselbe gilt sicherlich auch für viele Versuche mit anderen Organismen [wie z. B. bei Reptilien, Fischen, Octopoden usw. (OLTHOF 1934)]. Nach STAHN (1928) kann z. B. bei Insekten durch jeden äußeren Reiz eine Atmungsbeschleunigung hervorgerufen werden. Aber auch ohne Fesselung der Tiere und bei vergleichbaren Versuchsbedingungen wurden zum Teil unterschiedliche Ergebnisse erzielt (PETERS; JORDAN und GUITTART). Möglicherweise muß auch hier zur Erklärung dieser Unstimmigkeiten der Hinweis von VAN DAM (1938) berücksichtigt werden, daß die alleinige Beobachtung der Atemfrequenzänderungen bei diesen Versuchen nicht ausreicht und zu Fehlschlüssen Anlaß geben kann, da z. B. bei Fischen keine Gleichförmigkeit in der Art, wie diese ihr Ventilationsvolumen ändern, besteht. So ist beim Aal bei starker Dyspnoe eine Frequenzsteigerung um mehr als das 2fache, bei der Forelle jedoch nur um 30% zu beobachten; dafür ist bei letzterer die Atemtiefe um das 4fache erhöht. Beim Karpfen und bei *Carassius auratus* war bei O_2 -Mangel die Atemfrequenz wenig geändert, sehr stark dagegen bei *Leuciscus*, *Sphaeroides* und *Uranoscopus* (CROZIER und STIER 1925, KOKUBO 1930, F. G. HALL 1931, MEYER 1935a). Siehe auch die Beobachtungen von Voss (1936) bei Amphibien und Reptilien.

Die normale periodisch-rhythmische Tätigkeit des Kloakenmuskels der Holothurien, dessen Kontraktionen zur Wassererneuerung bei der Atmung erforderlich sind, kommt durch O_2 -Mangel zustande, der, jedenfalls am isolierten Muskelpräparat, auch zu einer Amplitudenvergrößerung der Bewegungen führt. CO_2 in geringen Konzentrationen ist dabei ohne Einfluß (LUTZ 1930). Die „Notatmung“ der Holothurien wird ebenfalls nur durch O_2 -Mangel ausgelöst (WINTERSTEIN 1909). Beim Seestern *Asterias ruber* beobachtete MEYER (1935b), daß bei geringer O_2 -Spannung die Saugfüßchen des Ambulakralsystems, durch die die Atmung etwa zur Hälfte erfolgt, weiter ausgestreckt werden als beim normalen O_2 -Druck, wodurch die Diffusionsfläche für den Gaswechsel vergrößert wird. Bei den Landpulmonaten *Limax*, *Arion* und *Helix* ist nur die Größe der Atemöffnung durch CO_2 beeinflussbar; die bei 9—11% O_2 auftretenden Atembewegungen werden dagegen nur vom O_2 -Gehalt des Mediums geregelt (DAHR 1924, YSSELING 1930).

Auch bei einigen im Wasser lebenden Insektenlarven sind Beispiele von Atmungsregulationen bekannt geworden, die nur durch O_2 -Mangel, nicht aber durch CO_2 ausgelöst werden. So hatte die CO_2 -Spannung des Wassers keinen deutlichen Einfluß auf die Ventilationsbewegungen von *Phryganea grandis*, wohl aber die O_2 -Konzentration. Im luftgesättigten Wasser unterblieb sogar jede Bewegung (VAN DAM 1937). Die Kiemen der Larven von *Cloëon dipterum* (Ephemeride) schlagen bei hohem O_2 -Druck intermittierend, bei Erniedrigung des O_2 -Druckes werden die Ruheperioden verkürzt (FOX und SIMMONDS 1933, WINGFIELD 1937). Lange Apnoeperioden konnten auch bei Libellen- und

Ephemeridenlarven, bei Coleopteren usw. durch O_2 -reiches Wasser ausgelöst werden (BABAK und FOUSTKA 1907, s. auch WELCH und SEHON 1928). Nur durch O_2 -Mangel hervorgerufen wird schließlich die „Notatmung“ der *Aeschna*-Larven (WALLENGREN 1914a, b), das Aufsuchen der Wasseroberfläche von *Dytiscus*- und Mückenlarven (KROGH 1920, KOCH 1920) und von *Corixa* (BOTJES 1932) und Wasserkäfern (HEBERDEY 1938) zur Lufterneuerung.

Bei den Würmern, soweit Atembewegungen überhaupt vorkommen, scheint nur der O_2 als atmungsregulierender Faktor in Betracht zu kommen. So reagieren die Tubificiden (ALSTERBERG 1922, DAUSEND 1931) weder auf CO_2 - noch auf p_H -Änderungen, wohl aber auf O_2 -Mangel mit einer Veränderung der Länge und der Rhythmik des aus dem Boden herausragenden und Atembewegungen ausführenden Hinterendes des Körpers, wobei Wasser aus höher gelegenen Schichten nach unten gesaugt wird.

Und zwar hören bei mehr als 3 ccm O_2 pro Liter diese schlängelnden Bewegungen auf (Apnoe), bei 0,23 ccm und weniger ccm O_2 pro Liter tritt Atemnot und Erstickung ein (WEBER 1933). Bei geringen O_2 -Konzentrationen bewirkt schon eine sehr kleine Abnahme des O_2 -Gehaltes eine verhältnismäßig große Verlängerung des Tieres (ALSTERBERG 1922). Die schlängelnden Bewegungen sollen dabei nach HARNISCH (1936) durch die Ansammlung von Produkten eines anaeroben Stoffwechsels im Körper ausgelöst werden.

Bei *Nereis diversicolor* (JÜRGENS 1935), *Nereis virens* und *Arenicola marina* (VAN DAM 1937) wird die Intensität der schlängelnden Ventilationsbewegungen dieser Würmer in ihren Röhren in der Regel vom O_2 -Gehalt des Wassers beherrscht.

Viele Actinien verlassen bei O_2 -Mangel das Wasser und bleiben im kontrahierten Zustande an der Luft-Wassergrenze. Änderungen des CO_2 -Gehaltes sind dabei ohne Einfluß (PIÉRON 1908). Es ist in diesem Zusammenhange von Interesse, daß nach PETRIK (1931) der O_2 -Verbrauch von Actinien dadurch reguliert wird, daß durch mehr oder weniger in den Körper aufgenommenes Wasser die für die O_2 -Diffusion in Betracht kommende Oberfläche verändert wird.

Auf Grund des verschiedenartigen Verhaltens der Crustaceen [und etwas Ähnliches gilt wohl auch für die Verhältnisse bei den Insekten (WIGGLESWORTH 1934)] ist von FOX und JOHNSON (1934) die Frage aufgeworfen worden, auf welche Weise, besonders bei den Evertebraten, das Atemzentrum Kunde von den Atembedingungen erhält: wird dies durch die Größe der Gasspannungen an dem Atmungsepithel oder im Blut, durch eine veränderte H-Ionenkonzentration des Blutes und des betreffenden Atemzentrums hervorgerufen, oder aber wird das Atemzentrum auf nervösem Wege von peripheren O_2 - oder CO_2 -Rezeptoren beeinflusst? ¹ Für das tatsächliche Vorhandensein der letzteren Möglichkeit spricht, daß für einige Wirbellose, und in besonderen Fällen auch

¹ Die Beobachtungen von LUTZ (1930) am isolierten Kloakenpräparat der Holothurien zeigen schließlich die Möglichkeit einer peripheren Regulation.

bei Wirbeltieren, derartige chemische Rezeptoren nachgewiesen worden sind oder doch als ziemlich sicher angenommen werden müssen; so z. B. bei *Helix* für die Weite der Lungenöffnung (YSSELING), bei limnophilen Syrphidenlarven (ALSTERBERG 1934); ferner Rezeptoren für O_2 bei *Tubifex* (ALSTERBERG 1924) und *Aeschna*-Larven (BABÁK 1912b), für CO_2 bei *Periplaneta* (HAZELHOFF 1926), bei *Dixippus* (STAHN 1928) und auch in der Entenlunge (WINDLE und NELSON 1938). Irgendwelche gesetzmäßigen Zusammenhänge zwischen dem Vorkommen der einen oder der anderen Regulationsart (CO_2 oder O_2) oder der einen oder der anderen Beeinflussung des Atemzentrums (auf dem Blut- oder nervösen Wege) und irgendwelchen Umweltbedingungen sind bis jetzt jedoch noch nicht gefunden worden.

Durch die Regulation des Atemminutenvolumens wird bewirkt, daß gerade genügende Mengen des Atmungsmediums an den Gasaustauschflächen der Organismen vorbeibewegt werden, die zu einer ausreichenden O_2 -Aufnahme erforderlich sind. Wie schon erwähnt, kann auch durch Veränderung der dem Atmungsmedium von den einzelnen Organismen entzogenen O_2 -Menge eine Regulation zustande kommen. Diese prozentuale Ausnutzung des O_2 , d. h. der Unterschied zwischen dem O_2 -Gehalt des ein- und ausgeatmeten Atmungsmediums, ausgedrückt in Prozenten des O_2 -Gehaltes des eingeatmeten Mediums, ist in letzter Zeit bei verschiedenen Wassertieren eingehend untersucht worden (VAN DAM 1935/38, HAZELHOFF 1938). Dieser Wert stellt mit ein Maß für den Wirksamkeitsgrad der Diffusionseinrichtungen des betreffenden Atmungsapparates dar und ist daher natürlich bei den einzelnen Tierarten recht verschieden groß. Es ist interessant, daß die O_2 -Ausnutzung bei Wassertieren mit gut ausgebildeten Kiemen (z. B. bei Fischen bis zu 80%) wesentlich höher ist als bei lungenatmenden Organismen (z. B. der Mensch mit nur etwa 25%). Es wird später bei der Beurteilung der Luft- und Wasseratmung darauf zurückzukommen sein. Aber auch unter den Wasseratmern finden sich Tiere, deren O_2 -Ausnutzung des Atemwassers eine sehr niedrige ist. Und zwar konnte beobachtet werden, daß dies ganz allgemein bei den sogenannten „Partikelfressern“ der Fall ist, die ihre Nahrung durch Filtration des Wassers gewinnen und diesem Wasser gleichzeitig den O_2 entnehmen. Die prozentuale Ausnutzung betrug bei ihnen im Mittel etwa 13%; bei den zu dieser Gruppe gehörenden Schwämmen im Mittel 19%, bei den Lamellibranchiaten 7% und bei den Ascidien im Mittel 6%. Die Ausnutzungswerte anderer Wasserorganismen lagen dagegen beträchtlich höher, bei den Anneliden wurden im Mittel 41%, bei den Crustaceen 49%, bei den Gastropoden 68%, bei den Echinodermen 53% und bei den Fischen 62% gefunden.

Eine Erhöhung der prozentualen O_2 -Ausnutzung bei O_2 -Mangel oder erhöhtem O_2 -Bedarf im Sinne einer Atmungsregulation ist nun nur bei den „Partikelfressern“ nachweisbar, bei denen schon normalerweise

ein verhältnismäßig großer und möglicherweise schon maximaler Wasserstrom durch den Körper gepumpt wird, der auf den Nahrungserwerb, nicht aber auf ihren O_2 -Verbrauch eingestellt ist. Eine vermehrte O_2 -Aufnahme kann daher nur durch eine Erhöhung der O_2 -Ausnutzung zustande kommen. Sie kann z. B. bei *Mya arenia* und bei *Anadonta* nach einer anoxybiontischen Periode, bei der der Ventilationsstrom sistiert hatte, beträchtlich ansteigen, bei *Anadonta* von 3 auf 45%. — Eine Verlangsamung des Atemstromes ruft bei Schwämmen und bei *Anadonta* eine erhöhte Ausnutzung hervor.

Umgekehrt scheint bei den Organismen, bei denen der Wasserstrom nur zur O_2 -Versorgung dient, die O_2 -Ausnutzung schon normalerweise maximal zu sein, was vom Standpunkt einer Arbeitersparnis der Atemmuskeln verständlich ist. Eine Atmungsregulation kann daher nur auf dem Wege einer Steigerung des Ventilationsvolumens zustande kommen (s. auch F. G. HALL 1931). Trotz der Abkürzung der Kontaktzeit zwischen Atemfläche und Medium bei einer Vergrößerung des Ventilationsvolumens können die Ausnutzungswerte lange Zeit unverändert hoch bleiben; eine Abnahme begann z. B. beim Aal erst bei einer Steigerung des Atemminutenvolumens auf das 3fache. Es wird dies wohl im wesentlichen durch eine Zunahme und Beschleunigung des Blutstromes durch die Atmungsorgane bewirkt.

Von besonderem Interesse ist ferner, wie weit die prozentuale Ausnutzung auch bei herabgesetztem O_2 -Gehalt des Atmungsmediums noch unverändert aufrecht erhalten werden kann, und bis zu welchen niedrigen O_2 -Drucken herab von den verschiedenen Tieren überhaupt O_2 aus dem Atmungsmedium entnommen werden kann. Die Größe dieser „Ausnutzbarkeit“ des O_2 hängt außer von dem Bau der Gasaustauschfläche und der Funktionstüchtigkeit des Ventilationsapparates noch z. B. von dem Vorhandensein und von bestimmten Eigenschaften von Blutfarbstoffen, von der Kreislaufgeschwindigkeit im Atmungsorgan usw. ab.

So können, um nur einige Beispiele zu nennen, nach VAN DAM (1937) *Arenicola* und *Nereis virens*, die beide ein Hämoglobin mit besonders großer O_2 -Affinität besitzen, Wasser mit nur 5—10% des normalen O_2 -Gehaltes bei einem einmaligen Passieren längs ihrer Atmungsfläche bis zu 3% des Luftsättigungsgehaltes ausnutzen. Siehe z. B. auch die weitgehendere Ausnutzung des O_2 -Gehaltes des Wassers durch die Hb-besitzende *Planorbis* im Gegensatz zu *Limnaea* (RAFFY und FISCHER 1933). Nach HAZELHOFF (1938) war bei *Calappa granulata* (Brachyura) die O_2 -Ausnutzung bis herab zu einem O_2 -Gehalt von 0,6 ccm pro Liter bei beträchtlicher Verstärkung des Atemstromes nicht verringert (sie betrug etwa 77%); bei *Octopus* war noch bei 0,33 ccm O_2 pro Liter eine normale Ausnutzung von im Mittel 52% vorhanden (s. dagegen WINTERSTEIN 1925); bei *Uranoscopus* sank die Ausnutzung nur von 80 auf 60%, als der O_2 -Gehalt auf 1,5 ccm O_2 pro Liter abgesunken war (s. dagegen MEYER 1935a). Die prozentuale Ausnutzung nahm bei der Forelle schon bei einem O_2 -Gehalt der Umgebung von 4 ccm, beim Aal bei 2—1,5 ccm pro Liter und bei *Spheroides* erst bei unter 1 ccm

pro Liter ab (VAN DAM 1938; s. auch GARDENER und KING 1922). Der O_2 -Vorrat des Atmungsmediums wurde z. B. von *Mytilus edulis*, *Cambarus*, *Limulus*, *Anax*, *Fundulus*, *Triturus*, *Amblystoma* bis zum letzten Rest verbraucht (MALOEF 1936/37a, b), nicht dagegen von *Planaria* (BOLEN 1937).

Die Beziehungen, die zwischen dieser Fähigkeit, auch noch aus Wasser mit stark erniedrigtem O_2 -Gehalt genügend O_2 herausholen zu können, und der Aufrechterhaltung des normalen O_2 -Verbrauches bei erniedrigtem O_2 -Druck (s. unten) bestehen, seien hier nur angedeutet.

Außer durch eine vermehrte Heranschaffung und Ausnutzung des Atmungsmediums kann schließlich auf noch andere Weise, nämlich durch Vergrößerung der Gasaustauschflächen, eine Atmungsregulation stattfinden. Eine derartige, bei Abnahme des O_2 -Gehaltes auftretende Zunahme der Gasdiffusionsfläche haben wir schon oben beim Seestern kennengelernt. Aber auch die Größe der beatmeten inneren Lungenoberfläche der Säugetiere wird entsprechend dem zur Verfügung stehenden und benötigten O_2 eingestellt. Besonders durch die Untersuchungen von HESS (1931) wissen wir, daß die Atembewegungen (besonders des Zwerchfells) der Säugetiere um eine bestimmte, jedoch veränderliche Mittellage herum stattfinden. Es wird dies durch eine veränderte Ausgangslänge der einzelnen Atemmuskeln durch Änderungen ihres Tonus bewirkt. Es können so mehr oder weniger große Lungenteile beatmet werden; die dem O_2 -Bedürfnis der Organismen adäquate Lungenoberfläche wird eingestellt. Von der gesamten Lungenoberfläche wird normalerweise, beim ruhenden Organismus, nur immer ein Teil bei der Atmung benutzt. Bei Abnahme des O_2 -Druckes in der Luft, z. B. im Hochgebirge, ist eine deutliche Verschiebung der Mittellage des Zwerchfelles nach der Inspirationsseite zu beobachten, es werden größere Lungenteile beatmet (KILLIAN und KUHLMANN 1937).

Mit einer gewissen Berechtigung können hier noch Beobachtungen von WIGGLESWORTH (1931/32) am Tracheensystem von Insekten erwähnt werden, die allerdings wegen der Doppelnatur der Tracheen („Ventilationstracheen“ gleich Lunge, „Diffusionstracheen“ gleich Blutgefäße anderer Organismen) eventuell auch mit jener echten Kreislaufanpassung der Wirbeltiere zu vergleichen sind, bei der in tätigen Organen, z. B. im Muskel, eine beträchtliche Zunahme der Zahl der durchbluteten Kapillaren zu beobachten ist (siehe z. B. GABBE 1932). Nach WIGGLESWORTH verschwindet die normalerweise sich in den trachealen Endigungen (in den Insektengeweben) befindende Flüssigkeit bei erhöhtem O_2 -Bedarf (z. B. bei Tätigkeit der Gewebe bei Erstickung) und wird durch Gas ersetzt. Die O_2 -Versorgung der Gewebe wird so wegen der viel schnelleren O_2 -Diffusion in Gasen weitgehend verbessert. Ausgelöst wird dieser Vorgang wie die Eröffnung der Blutkapillaren durch Stoffwechselprodukte, die hier durch einen Anstieg des osmotischen Druckes wirken (s. auch КОСН 1936).

Bei Organismen, die *verschiedene Möglichkeiten des Gasaustausches* (durch die Haut oder die Lunge, im Wasser oder in der Luft) besitzen, können ferner je nach dem O_2 -Gehalt ihres Biotopes die eine oder die andere oder beide Atmungsarten benutzt werden. So ist seit langem bekannt (s. WINTER-

STEIN 1921), daß manche Lungenschnecken in sehr O_2 -reichem Wasser nicht mehr an die Wasseroberfläche zum Luftschöpfen kommen, sondern ihren O_2 -Bedarf durch Hautatmung aus dem Wasser decken. Der Zeitpunkt, an dem junge Planorbiden von der ursprünglich ausschließlichen Hautatmung im Wasser zur Luftatmung (Luftfüllung der Atemhöhle) übergehen, hängt außer von der Größe der Tiere und der Temperatur vom O_2 -Gehalt des Wassers ab. In kaltem und daher O_2 -reicherem Wasser gibt eine Reihe, besonders der kleineren Schnecken, die Luftatmung wieder auf, zum Teil wohl auch wegen des geringeren O_2 -Bedarfes in der Kälte (PRECHT 1936; über ähnliche Beobachtungen bei *Limnaea* s. SONEHARA 1935). Auch Amphibien können in O_2 -reichem Wasser lange Zeit die Lungenatmung entbehren und durch Hautatmung ihren Gaswechsel bestreiten. Ein in sehr O_2 -reichen Bächen der Anden lebender Frosch mit sehr wenig entwickelten Lungen verläßt das Wasser überhaupt nicht und atmet nur durch die Haut [ALLEN (1922) nach PEARSE]. Das Axolotl behält in O_2 -reichem Wasser für Jahre seine larvale Form und die Kiemenatmung bei (PEARSE). — Nach COLOSI (1928) vollenden Krötenkaulquappen sogar ihre ganze Metamorphose in genügend O_2 -reichem Wasser und bleiben dann auch als vollentwickelte Tiere auf dem Boden des Zuchtgefäßes. Der „Atmotropismus“, der bei der Ontogenese normalerweise den Übergang von der Wasser- zur Luftatmung bewirkt, ist unterdrückt.

Umgekehrt konnte HORA (1930) bei den in Bergströmen lebenden Kaulquappen von *Megalophrys* (mit röhrenförmigem Mund und reduzierten Kiemen) beobachten, daß dieselben in fließendem Wasser nur mit den Kiemen atmen, daß sie jedoch bei Niedrigwasser in den stehenbleibenden kleinen Wasserlachen wegen des O_2 -Mangels sehr bald an die Wasseroberfläche zur Luftatmung kommen. — Bei *Leptodora* tritt bei herabgesetztem O_2 -Gehalt (oder erhöhter Temperatur) zu der sonst ausreichenden Haut- oder Rückenschildatmung noch die Darmatmung hinzu: es wird eine deutliche Steigerung der Zahl der Afteröffnungen beobachtet (SIEDENTOPF 1930).

d) „Notatmung“.

In diesem Zusammenhang ist noch auf ein bei O_2 -Mangel bei einer ganzen Reihe von Wassertieren auftretendes Verhalten hinzuweisen, das noch einmal das Wahrnehmungsvermögen einiger Tierarten für den O_2 -Gehalt ihres Atmungsmediums zeigt und eine weitere Anpassungsreaktion an einen zu geringen O_2 -Gehalt darstellt. Es ist das die besonders bei *Fischen* untersuchte „Notatmung“. Die Fische kommen in nicht genügend O_2 enthaltendem Wasser¹ an die Oberfläche und schwimmen dort mit schräg nach oben gerichtetem Kopfe umher, das Maul in direkte Berührung mit der Wasseroberfläche bringend, um das O_2 -reiche und CO_2 -arme Oberflächenwasser aufzusaugen, zum Teil auch, um eine Luftblase für kurze Zeit ins Maul aufzunehmen (WINTERSTEIN 1921, DIJKSTRA 1933). Die aufgenommene Luftblase wird dabei in der Regel nicht direkt zur Luftatmung benutzt, d. h. sie kommt mit dem Kiemenepithel nicht in Berührung; sie bleibt in der Mundhöhle, das an ihr in

¹ Besonders bei allmählicher Abnahme des O_2 -Gehaltes. Bei plötzlich einsetzendem Fehlen des O_2 kommt es in der Natur zu Fischsterben (siehe z. B. LIEBMANN 1938).

inniger Berührung vorbeistreichende Wasser gelangt so in besser durchlüftetem Zustande zu dem Atmungsepithel.

Das direkt (0,5—1 mm) unter der Luft-Wassergrenze befindliche Wasser enthält tatsächlich beträchtlich mehr O_2 als das Wasser wenige Zentimeter tiefer (DIJKSTRA; JORDAN und GUITTART): 1,27—1,18 ccm O_2 pro Liter an der Oberfläche, 0,6—0,69 ccm wenige Zentimeter tiefer. Selbst ein an der Oberfläche herumschwimmender Fisch brachte keine größere Durchmischung hervor. Die Notwendigkeit des dauernden Umherschwimmens bei der Notatmung wird bei dieser langsamen Durchmischung verständlich. — Die in tropischen Sümpfen mit ihrem sehr niedrigen O_2 -Gehalt lebenden Fische, die keine besonderen Luftatmungsorgane besitzen, können ihren O_2 -Bedarf überhaupt nur dadurch decken, daß sie von Zeit zu Zeit das O_2 -reiche Oberflächenwasser veratmen (CARTER und BEADLE 1931b). Von DAS (1937) wurde die Notatmung bei über 100 verschiedenen Süßwasserfischarten der Sümpfe Indiens beobachtet.

Sowohl O_2 -Mangel als auch CO_2 -Anreicherung kann bei Fischen die Notatmung hervorrufen: 0,6—0,7 ccm O_2 pro Liter bei normaler CO_2 -Spannung oder 4—5% CO_2 bei normalem oder sogar übernormalem O_2 -Gehalt; nach DIJKSTRA sind dabei beide Erscheinungen auf die gemeinsame Ursache der p_H -Erniedrigung des Atemzentrums zurückzuführen (s. oben). Im Gegensatz zu den Erfahrungen früherer Autoren (OSBORNE und MUNTZ 1906, REUSS 1914) beobachtete DIJKSTRA, daß bei Ersatz der über dem O_2 -armen Wasser befindlichen Luft durch ein O_2 -armes bzw. CO_2 -reiches Gasmisch die Notatmung der Fische immer wieder — alle 10—30 Sekunden — für kurze Zeit (5—40 Sekunden) unterbrochen wird. Es erweckte den Eindruck, als ob von dem Fisch „wahrgenommen wird, daß die oberflächliche Wasserschicht nicht ‚besser‘ oder vielleicht sogar ‚schlechter‘ ist als die untere“. Auch bei Absperrung der Tiere von der Wasseroberfläche durch eine Glasplatte trat eine derartige Unterbrechung der Notatmung auf.

Auch andere Tiere suchen bei auftretendem O_2 -Mangel ihres Biotops die O_2 -reichere Oberflächenschicht des Wassers auf.

So veranlaßt ein absinkender O_2 -Gehalt die *Holothurien*, an die Wasseroberfläche zu kommen, ihre Kloakenöffnung über das Wasser zu erheben und Luft in den Enddarm aufzunehmen. Auch hier kommt es zu keiner echten Luftatmung (WINTERSTEIN 1909). Die Luft gelangt nicht in die Wasserlungen selbst, die von der Kloake ausgehen; sie dient nur dazu, das in die Kloake aufgenommene Atemwasser mit O_2 anzureichern.

Sinkt der O_2 -Gehalt des Wassers unter 2,5 ccm pro Liter (bei 17° C) oder der der Tracheenluft unter 4% O_2 , dann kommen die Larven von *Aeschna*, nachdem sie stark dyspnoisch geworden sind, an die Wasseroberfläche zur Notatmung (infolge negativer Geotaxis). Sie nehmen dabei mit der über den Wasserspiegel erhobenen Hinterleibsspitze Luft in den Enddarm auf, in dem sich ihr Atmungsorgan befindet (DEWITZ 1890, WINTERSTEIN 1921). Während normalerweise unter Wasser durch

Atembewegungen das Wasser im Rectum rhythmisch gewechselt wird, wird bei der Notatmung mit Hilfe der aufgenommenen und öfters erneuerten Luftblase das Darmwasser bei geschlossenem After und Kontraktion der Darmmuskeln gut durchlüftet. Wenn der O_2 -Gehalt der Tracheenluft auf 12 und mehr % O_2 gestiegen ist, gehen die Larven wieder in das Wasser zurück. Die Wirksamkeit dieser Notatmung ist recht beträchtlich, die Tracheenluft wurde dabei oft O_2 -reicher als bei der normalen Atmung gefunden (WALLENBREN 1914 a, b, c). — Das bei *Triops cancriformis* bisweilen zu beobachtende Rückenschwimmen an der Wasseroberfläche mit gleichzeitigem starken Wasserschlagen der vorderen und mittleren Beinpaare wird von GASCHOTT (1928) als Notatmung bezeichnet (s. dagegen HOTOVY 1938).

Flußkrebse setzen sich nach JORDAN und GUITTART (1938) bei abgestellter Wasserzirkulation der Aquarien auf einen Stein, um der Wasseroberfläche näher zu sein. Sie kamen sogar so weit aus dem Wasser heraus, bis Luft in ihre Kiemenkammern eingetreten war. Die Atemfrequenz war dabei erhöht. Die Wollhandkrabbe (*Eriocheir sinensis*) richtet sich bei Abnahme des O_2 -Gehaltes in dicht bevölkerten Wasserbecken in charakteristischer Weise auf, um den Vorderteil ihres Körpers aus dem Wasser zu heben (OLTHOFF 1936b). Die Inspirationsöffnung befindet sich dabei ganz oder zum größten Teil außerhalb des Wassers. Es findet dann eine schon von VERWEY (1930) bei während der Ebbe an der Luft lebenden Mangrovekrabben beobachtete „Wasserzirkulationsatmung“ statt: das durch Skaphognathitbewegungen in Zirkulation gehaltene Kiemenhöhlenwasser verläßt diese Höhle durch die Expirationsöffnung, fließt entsprechend der Schwerkraft an der nahezu senkrecht gestellten ventralen Carapaxseite zur Inspirationsöffnung, wo es, eventuell zusammen mit etwas Oberflächenwasser wieder angesaugt wird. Der O_2 -Gehalt des so ausgiebig der Luft exponierten Ausatmungswassers wird auf diese Weise ungefähr verdoppelt, der CO_2 -Gehalt stark erniedrigt. Auch diese Notatmung wurde sowohl durch O_2 -Mangel (1,4 ccm pro Liter) wie durch CO_2 -Überschuß des Wassers hervorgerufen.

Der Amphipode *Hyaella spec.* soll bei starkem O_2 -Mangel an die Wasseroberfläche zur Notatmung kommen (CARTER und BEADLE 1931a). Und schließlich ist hier wohl auch das periodische Aufsuchen oberflächlicher, O_2 -reicherer Gegenden von im Schlamm lebenden Organismen, wie z. B. *Corethra*-Larven, *Asellus*, *Hirudineen* zu erwähnen (ALSTERBERG 1922).

Ähnlich wie bei der Notatmung kann auch noch auf andere Weise der O_2 -Gehalt des Atmungsmediums von den Organismen selbst erhöht werden. So stellt wohl das Schaumnest der luftatmenden Labyrinthfische neben anderen zu erfüllenden Zwecken den Versuch der Elternfische dar, durch Vergrößerung der Diffusionsoberfläche zwischen Flüssigkeit und Luft im Schaum die sehr schlechten Atmungsverhältnisse des betreffenden Biotops (tropische Sümpfe) zu verbessern (CARTER und BEADLE 1931b).

Die Eier und die jungen Fische, deren Luftatmung erst nach einigen Wochen möglich ist (BADER 1937), werden dabei gleichzeitig in den obersten und O₂-reichsten Wasserschichten gehalten. — Bei den Männchen von *Lepidosiren* treten, solange diese Tiere in Schlammböden von Stümpfen ihre Eier und Jungen bewachen, faden- oder büschelförmige, blutgefäßreiche Anhänge an den Flossen in der Becken- gegend auf, die früher mit der Atmung der Fische selbst in Zusammen- hang gebracht wurden. Es ist dies jedoch sehr unwahrscheinlich, da dieser Fisch in dem fast O₂-losen Biotop zur Luftatmung (Schwimm- blase) übergegangen ist (CUNNINGHAM und REID 1932/33, BEADLE 1933 b). Die Anhänge sollen vielmehr dazu dienen, den vom Männchen aus der Luft aufgenommenen O₂ an das Wasser des Schlammnestes (durch Diffusion) abzugeben, und so den Eiern und den etwa 45 Tage noch im Nest bleibenden Jungfischen, deren äußere Kiemen stark entwickelt und die zur Luftatmung noch nicht imstande sind, den nötigen O₂ zu- zuführen. Es konnte eine Zunahme des O₂-Gehaltes des Wassers durch Einsetzen von männlichen Lepidosiren mit Anhängen tatsächlich nach- gewiesen werden (s. dagegen FOXON 1933). — Zur Erklärung einer aus- reichenden und sonst kaum verständlichen O₂-Versorgung der etwa 600 sich entwickelnden Eier in der nur 1—2 ccm großen Bruttasche der Syngnathiden wird von LEINER (1937) sogar die Möglichkeit einer O₂-Sekretion in der Bruttasche in Betracht gezogen. — Auch die von vielen Brutpflegenden Fischen über den Eiern und den Jungfischen ausgeführten starken Flossenbewegungen, die Aufnahme der Eier und der Jungfische in die Mundhöhle bei den Maulbrütern dienen dazu, durch dauernde Wasserbewegung den unbeweglichen Eiern den nötigen O₂ zuzuführen. — Der Bitterling, der seine Eier in das Innere der Muschel- kieme legt, läßt diese so für eine gute O₂-Versorgung seiner Nach- kommen sorgen. Durch die Laichablage auf grünen Pflanzen, in Nestern aus grünen Pflanzen kann ferner ein hoher O₂-Gehalt für die sehr O₂-empfindlichen Eier gewährleistet werden. Weitere Einzelheiten s. WUNDER (1931). Über den Bau von Gehäusen aus grünen Pflanzen- teilen durch Wasserinsekten (z. B. *Hydrocampa*-, *Paraponyx*-Larven s. WIGGLESWORTH 1931, KARNY 1934, VAN DAM 1938).

Es darf bei allen diesen Einrichtungen, in denen die Photosynthese der Pflanzen durch Tiere zur O₂-Anreicherung benutzt zu werden scheint, jedoch nicht außer acht gelassen werden, daß bei fehlendem Licht ein zu- sätzlicher O₂-Verbrauch durch die Pflanze stattfindet. Das gilt sicher auch für das bei vielen Tieren (Protozoen, Schwämmen, Hydrozoen, Turbellarien, Muscheln) beobachtete Zusammenleben mit chlorophyllhaltigen Algen (GÖTSCHE und SCHEURING 1927). — Bei Belichtung stellt der Algenbesitz allerdings einen Vorteil bei der O₂-Versorgung dar: Algenhaltige Hydren sind im Hellen vom O₂-Gehalt der Umgebung weitgehend unabhängig (v. HAFFNER 1925, BEUTLER 1933); die von den Algen gebildete O₂-Menge kann sogar be- trächtlich größer sein als die von dem tierischen Organismus benötigte (STEPHENSON u. a. 1934, WELSH 1936). — Inwieweit es sich dabei um eine echte Symbiose mit wechselseitigen Vorteilen der beiden Partner oder viel-

mehr um Parasitismus oder einfache Ernährungsprobleme handelt, soll hier nicht weiter erörtert werden (s. dafür VAN TRIGT 1919, GÖTSCH 1922/24, BEUTLER 1926).

e) Einfluß, auf den Kreislauf.

Außer durch ein schnelleres Vorbeiströmen des Mediums an der Außenseite der Atmungsflächen kann auch durch eine Zirkulationszunahme, der an der Innenseite der Atmungsmembran vorbeifließenden und den O_2 von dort nach den Geweben weiter transportierenden Flüssigkeit, also des Blutes, eine meist gleichzeitig auftretende Anpassung an ein verschlechtertes Atmungsmilieu erfolgen (siehe z. B. TAIT 1935, VAN DAM 1938, GESELL 1939).

Zwischen der Ventilations- und Zirkulationsgröße besteht bei den Säugetieren ein gewisser Parallelismus (HESS 1934). Bei Muskelarbeit, also erhöhtem O_2 -Bedarf, nimmt die vom Herzen geförderte Blutmenge etwa im gleichen Maße wie die vom Atmungsapparat in der gleichen Zeit bewegte Luftmenge zu. Zur Erleichterung der O_2 -Aufnahme kommt es bei erniedrigtem O_2 -Druck außer zu einer Vergrößerung der den Austausch vermittelnden Oberfläche der Blutgefäße durch Eröffnung vorher geschlossener Kapillaren zu einer intensiveren Durchblutung der Lunge. — Mit sinkendem O_2 -Gehalt der Lungenluft des Frosches strömt mehr Blut durch die Lunge (BASTERT 1929). Auch bei Fischen geht die Herzschlagzahl weitgehend mit der Atemzahl parallel (v. SKRAMLIK 1935). KLADIENKO (1938) beobachtete nach operativer Entfernung einzelner Kiemenbögen bei Fischen (*Carassius auratus*) eine kompensatorische Zunahme der Durchblutung der verbleibenden Kiemenblätter bei unveränderter Herzfähigkeit. Ein geringes Absinken des O_2 -Gehaltes des Wassers wird von *Nereis* durch stärkere Atembewegungen der reich vaskularisierten Parapodien kompensiert. Bei noch geringerem O_2 -Gehalt kommt es dann zu einer Frequenzzunahme der Kontraktionen des Dorsalgefäßes, die Umlaufgeschwindigkeit des Hämoglobin enthaltenden Blutes durch das Hautgefäßnetz der Parapodien wird erhöht. Bei über die Norm erhöhtem O_2 -Gehalt (10,3—14,8 mg pro Liter) ist dagegen überhaupt keine oder nur eine sehr schwache Blutbewegung festzustellen. Nach VAN DAM (1937) ist bei diesen Versuchen jedoch zu berücksichtigen, daß infolge der angewandten Narkose die Atmungsregulation durch Vergrößerung des Ventilationsvolumens, die beim normalen Tier in stärkerem Grade stattfindet, gehindert gewesen ist.

Es sei darauf hingewiesen, daß O_2 und CO_2 auch durch eine periphere Gefäßwirkung die Durchblutungsgröße ändern können. So führt CO_2 -Zusatz zur Atmungsluft zu einer Zunahme der Lungendurchblutung (LÖHR 1924), die Weite der Plazentargefäße, des fetalen Atmungsapparates, wird durch den O_2 -Gehalt oder die Reaktion des fetalen Blutes reguliert (SCHMIDT 1925).

IV. Zusammenhänge zwischen den Atmungsverhältnissen der Umgebung und anatomisch nachweisbaren Umwandlungen und Neubildungen von Organen.

a) Luftatmungsorgane der Fische.

Das eben erwähnte Aufnehmen von Luftblasen in die Mundhöhle bei der Notatmung der Fische kann wohl als der erste Schritt zur Ausbildung von besonderen akzessorischen Luftatmungsorganen bei diesen Tieren bezeichnet werden (WINTERSTEIN 1921, DAS 1937). Die niedrige O_2 -Konzentration des Wassers wird so zu einem Faktor von großer biologischer Bedeutung, indem er zu dem Auftreten luftatmender Fische Anlaß gibt. Es führt uns dies zu einem weiteren Abschnitt, nämlich zu den auch grob anatomisch nachweisbaren Veränderungen, Umwandlungen und eventuell auch Neubildungen bestimmter Organe und Organsysteme, die als Anpassungen an veränderte Atmungsbedingungen zu beobachten sind.

Der niedrige O_2 -Gehalt tropischer Sümpfe mit weniger als 0,1 ccm O_2 pro Liter schon 1—2 cm unter der Oberfläche, das Vorhandensein großer O_2 -Mengen in der dicht darüber befindlichen Luft machen es verständlich, daß gerade hier viele Fische zur teilweisen oder vollständigen Luftatmung übergegangen sind (CARTER und BEADLE 1931b, DAS 1937). Außerdem sind luftatmende Fische noch in der Ebbe-Flutzone anzutreffen. *Akzessorische Luftatmungsorgane* finden sich völlig unabhängig bei den verschiedensten Fischarten, dieselben Anpassungen oft bei ganz verschiedenen Gattungen (SCHÖTTLE 1932). Sie dienen im wesentlichen der O_2 -Aufnahme, die CO_2 wird meist weiter durch die erhalten bleibenden Kiemen ins Wasser (solange es dessen ja lange Zeit niedrig bleibender CO_2 -Druck zuläßt) ausgeschieden, so daß es sich in der Hauptsache bei diesen Organen um Anpassungen an einen O_2 -Mangel handelt. Bei erwachsenen Labyrinthfischen mit fertig ausgebildeten Luftatmungsorganen findet jedoch bei einem O_2 -Gehalt des Wassers von weniger als 5% oder einem CO_2 -Gehalt von mehr als 5% ein Schluß der Kiemendeckel zur Vermeidung von O_2 -Verlusten oder von CO_2 -Aufnahme durch das Wasser statt; die CO_2 wird dann auch nur durch das Labyrinth ausgeschieden (VAN DIJK 1938). Die Umstellung auf die Luftatmung kann bei manchen Fischen sogar so weit gehen, daß die Wasseratmung allein, auch in O_2 -reichem Wasser nicht mehr ausreicht (z. B. *Hoplosternum litorale*).

Im folgenden sei eine kurze Übersicht über die Haupttypen dieser Luftatmungsorgane der Fische gegeben (CARTER und BEADLE 1931b, CARTER 1935, SCHÖTTLE 1932, HORA 1935/37, DAS 1927/37, LEINER 1938). Bei der „Notatmung“ wird die aufgenommene Luftblase im Maul hin und her bewegt und so eine O_2 -Anreicherung des durch die Kiemen strömenden Wassers bewirkt.

Der erste Schritt zur Luftatmung stellt die Aufnahme größerer Luftmengen in die stärker vaskularisierte Mundhöhle und in die vergrößerten Operkularkammern dar, wobei sich gleichzeitig die Sekundärfalten der Kiemen stark entwickeln können. Das Gas, das direkt mit dem Atmungsepithel in Berührung tritt, wird z. B. bei *Hypopomus* durch die Kiemenöffnung wieder entfernt. Kompliziert gebaute, vaskularisierte Schleimhautfalten wurden in der Mundhöhle von *Gymnotus electricus* gefunden (BÖKER 1933). Bei *Symbranchus marmoratus* ist außer dem Epithel der Mundhöhle und der Kiemenkammer noch das benachbarter Pharynxabschnitte zu einem respiratorischen Epithel umgewandelt. Eine besonders reichliche Vaskularisierung der Operkularkammer findet sich bei *Pseudapocryples lanceolatus* (Das 1933/34). Es kommt zur Ausbildung von Operkulardivertikeln, so bei *Clarias* zur Entstehung der suprabranchialen Gefäßkammer, die baumartig verzweigte Luftatmungsorgane enthält. *Saccobranchus fossilis* besitzt einen stark vaskularisierten suprabranchialen Sack, die „Operkularlunge“. Besonders kompliziert gebaut und mit vielen Blutgefäßnetzen versehen sind schließlich die über den Kiemen liegenden Luftkammern, das „Labyrinth“ der Labyrinthfische (BADER 1937).

Es kann ferner zur reichlichen Vaskularisierung des Pharynx, zur Bildung eines pharyngealen Atmungsepithels (*Monopterus javanensis*, *Electrophorus electricus*) und schließlich auch zum Auftreten pharyngealer Divertikel („Lungen“) kommen (*Ophiocephalus*, *Periophthalmus*, *Amphipnous*). Bei *Periophthalmus* befindet sich auch beim Aufenthalt unter Wasser ein Luftvorrat in der bukkopharyngealen Tasche (WILLEM und BOELAERT 1937). Die aufgenommene atmosphärische Luft kann verschluckt werden, und es kommt so zur Magen- und Darmatmung (*Misgurnus fossilis*, *Lepidocephalus*, *Hoplosternum*, *Ancistrus*, *Hypostomus*, *Plecotomus*). Die Wandung bestimmter Abschnitte des Magen-Darmkanals wird dabei weitgehend den Atmungsbedürfnissen angepaßt (reichliche Blutversorgung, Dünne der Wandung), die Abschnitte sind frei von Nahrungsteilen. Abgegeben werden die Gase durch das Maul oder den After. — Von inneren Organen kann dann noch die Schwimmblase als Luftatmungsorgan durch reiche Vaskularisierung und Oberflächenvergrößerung durch Septen umgewandelt sein [z. B. bei *Polypterus*, *Amia*, *Lepidosteus*, *Erythrinus*, *Umbra*, *Hoplerythrinus* und *Arapaima* (BÖKER 1933)]. Dabei wird die in das Maul aufgenommene Luft durch den weiten Ductus pneumaticus in die umgewandelte Schwimmblase befördert. Die verbrauchte Luft wird durch das Maul oder die Kiemenöffnungen nach außen gebracht. Den höchsten Grad der Luftatmung stellen dann die „Lungen“ der Polypteriden und Dipnoer dar, von denen die der letzteren dem alveolären Bau der Amphibienlungen stark ähneln. Während des oft monatelang dauernden Trockenschlafes (etwa $\frac{1}{2}$ m tief in ausgetrocknetem Schlamm) findet bei den Dipnoern ausschließlich eine Luftatmung statt (SMITH 1930).

Und schließlich ist noch zu erwähnen, daß durch besonders reichliche Vaskularisierung (Verzweigung der Blutkapillaren zwischen den Epidermiszellen), durch Fehlen von Schuppen die gesamte Haut oder besondere Hautstellen, z. B. des Schwanzes (*Periophthalmus*), bei anderen Gobiden die aus dem Wasser ragende Haut des Vorderkörpers, zu einem Luftatmungsorgan umgewandelt sein können. Die betreffenden Fische (z. B. der Aal) werden so ebenso wie die Fische mit anderen gut ausgebildeten Luftatmungsorganen (z. B. *Anabas*, *Periophthalmus*) befähigt, auch für mehr oder weniger lange Zeit auf dem Lande zu leben. Sie erhalten die Möglichkeit, Austrocknungsperioden ihrer Wohngewässer z. B. durch Auswandern in andere noch Wasser enthaltende Tümpel zu überstehen. Diese Möglichkeit des Außerwassergehens wird jedoch nur von einigen Fischarten mit akzessorischen

Luftatmungsorganen ausgenutzt, primär ist die Luftatmung sicher nur eine Anpassung an die schlechten O_2 -Verhältnisse der betreffenden Biotope (CARTER und BEADLE 1931b).

b) Problem der Luft- und Wasseratmung.

In diesem Zusammenhange ist noch kurz auf das *Problem der Wasser- und Luftatmung* ganz allgemein einzugehen, denn ohne weiteres ist es ja nicht verständlich, warum bei einem Übergang von einem wenig O_2 enthaltenden Medium in ein im Verhältnis dazu O_2 -reiches Medium besondere Anpassungen der Atmungsorgane nötig sind. Ausführlich sind diese Verhältnisse von COLOSI (1931), CARTER (1931) und VAN DAM (1938) erörtert worden.

Es ist zunächst die Tatsache zu erwähnen, daß, wie schon gesagt, ein Gasaustausch immer nur durch feuchte Gewebe stattfindet und durch trockene Zelloberflächen gar nicht möglich zu sein scheint. Nach v. FRISCH (briefliche Mitteilung) darf dabei jedoch auch ein anderer, möglicher Zusammenhang nicht außer acht gelassen werden, nämlich daß eine für einen wirksamen Gasaustausch geeignete Oberfläche so zart sein muß, daß es an dieser Stelle besonders leicht zur Wasserdampfabgabe und damit zu einem Vertrocknen der tiefer gelegenen Zellen kommen kann, was irgendwie verhindert werden muß. Jedenfalls sind alle Atmungsepithelien von einer dünnen Flüssigkeitsschicht bedeckt¹, für deren Erhaltung bei der Luftatmung mit ihrer großen Gefahr der Austrocknung durch alle möglichen Einrichtungen gesorgt wird (CARTER 1931).

So finden sich bei hautatmenden, an der Luft lebenden Tieren zahlreiche Schleim oder Flüssigkeit absondernde Drüsen in der Haut [z. B. bei Turbellarien, Landnemertinen, Landisopoden (MÖDLINGER 1931), Mollusken, Amphibien]. In den zu „Lungen“ umgewandelten Teilen der Kiemenhöhle luftatmender Decapoden (*Birgus*) sind Drüsen zur Erhaltung der Flüssigkeitsschicht vorhanden (HARMS 1932). Und auch in den Kiemen luftatmender Fische sollen vermehrt Schleimzellen zur Feuchterhaltung der Kiemen auftreten (SCHÖTTLE 1932, s. dagegen LEINER 1938). Ein kapillares Festhalten von Wasser soll ferner durch Verwachsungen von Kiemenlamellen ermöglicht werden, die Kiemenhöhle selbst ist besser verschlossen. — Kompliziertere Vorrichtungen zur Befeuchtung der Kiemenkammern finden sich bei den Crustaceen. So bildet z. B. die in der Gezeitenzone und auch auf dem Lande lebende *Ligia baud.* (Isopode) durch Aneinanderlegen des 6. und 7. Thorakalbeines eine kapillare Rinne, in der Wasser aus dünnen Schichten, niedrigen Wasserlachen und dergleichen aufsteigen und so die Kiemen feucht halten kann (BARNES 1938). Außer dem oben bei der Notatmung von *Eriocheir* beschriebenen Mechanismus der „Wasserzirkulationsatmung“ konnte VERWEY (1930) bei anderen amphibisch in der Flut-Ebbezone lebenden Mangrovekrabben noch eine andere Art der Luftatmung beobachten: Durch die mit Wasser gefüllte Kiemenkammer wird dauernd Luft durchgepumpt. Bei dieser letzten Luftatmungsart (die eigentlich auch wieder nur eine „Notatmung“ darstellt) geht der Wasservorrat sehr viel schneller verloren als bei

¹ Über das Vorhandensein einer die respiratorische Oberfläche bedeckenden Flüssigkeitsschleiers bei den Landtieren, besonders auch in den Tracheenendigungen der Insekten, berichtet im einzelnen COLOSI (1928/31).

dem Aus- und Einpumpen des Wassers, das bis zu 9 Stunden ohne Wassererneuerung vor sich gehen kann. Ist das Wasser verbraucht, suchen einige Krabben zur Befeuchtung das Meer wieder auf. Bei *Birgus* wird der Kiemenhöhle beim Trinken Wasser zugeführt, so daß diese Krabbe wochenlang an der Luft leben kann (HARMS 1932). Außer anderen Einrichtungen zur Erhaltung der Flüssigkeitsschicht im Inneren der Kiemenhöhle seien noch chitinine Ausstülpungen an der Körperseite (Wassersäcke) bei den *Gecarciniden* erwähnt, die das durch den Mund zugeführte Wasser speichern sollen (v. RABEN 1934). — Als Beispiel dafür, daß auch die Form der Atembewegungen zur Vermeidung von Wasserverlusten abgeändert werden kann, seien die Beobachtungen von WALLENGREN (1914b) an *Aeschna*-Larven angeführt: Bei bloßer Luftatmung werden die Atembewegungen besonders flach und frequent, so daß die feuchte Luft im Darm nur langsam erneuert wird.

Oder aber die Atmungsorgane werden ins Innere des Körpers verlegt (Kiemendeckel mehr Decapoden, Mantelraum der Gastropoden, Tracheen, Lungen), und es wird durch besondere Vorrichtungen für eine Wassersättigung des geatmeten Luftstromes gesorgt [Nasenschleimhaut usw.; siehe ferner den normalen, fast völligen Stigmenverschluß mancher Tracheaten (HAZELHOFF 1926), die Schließung der Atemöffnung bei Schnecken (WITT 1932, s. dagegen YSSELING) als Schutz vor Austrocknung]. Es scheint dabei von geringerer Bedeutung zu sein, daß die Außenluft gar nicht mehr rein oder direkt mit dem Atmungsepithel in Berührung kommt; sie gelangt nur noch, mit mehr oder weniger großen Mengen von Ausatemungsluft gemischt (Lungen), oder sogar nur auf dem Diffusionswege (Tracheen), dafür aber wasserdampfgesättigt an die Gasaustauschfläche selbst.

Letzten Endes ist daher die Luftatmung ebenfalls eine „Wasseratmung“, der O_2 der atmosphärischen Luft kann auch erst nach Lösung und Diffusion in dieser Flüssigkeitsschicht über dem Atmungsepithel in dieses eindringen. Die Benutzung ein und derselben Atemfläche zur O_2 -Entnahme aus der Luft oder dem Wasser bei einer ganzen Reihe von Organismen wird so verständlich [z. B. Anneliden (RAFFY 1930, 1934b), viele Crustaceen, Mollusken]. Von den Pulmonaten ist bekannt, daß die normalerweise mit Luft gefüllte Atemhöhle bei jungen Tieren und bei erwachsenen, in großer Wassertiefe lebenden Tieren zur Wasseratmung mit Wasser gefüllt ist.

Die Dicke der infolge von Adhäsion unbewegten Flüssigkeitsschicht über dem Atmungsepithel, in der der Gastransport nur durch Diffusion stattfinden kann, ist bei wasseratmenden Tieren, bei denen in der Regel ein Wasserstrom an dem Atmungsepithel vorbeibewegt wird, sehr gering (wohl nur in molekularen Dimensionen). Jedenfalls ist sie nach CARTER ganz bedeutend dünner als die Flüssigkeitsschicht der Atmungsepithelien bei Luftatmern (deren Größe jedoch nicht bekannt ist). Die CO_2 -Aufnahmemöglichkeit des Wassers ist außerdem, ohne daß sich der Partialdruck der CO_2 ändert, bedeutend größer als die der Luft, was vor allem bei den im Innern des Körpers gelegenen Luftatmungsorganen der Fische wegen des durch einen höheren CO_2 -Druck herabgesetzten O_2 -Aufnahmevermögens des Blutes (s. unten) eine Rolle spielen könnte. So kommt CARTER zu dem Schluß, daß, natürlich unter der Voraussetzung der Luftsättigung des Wassers, die Wasseratmung der

Luftatmung überlegen ist; die Notwendigkeit struktureller Anpassungen wird so erklärt.

CARTER versucht, dies durch den Vergleich der Atmungsflächen verschiedener luft- und wasseratmender Tiere, bezogen auf das Körpergewicht, zu beweisen. Soweit aus den sehr variablen und von vielen anderen Faktoren auch noch abhängigen Zahlen geschlossen werden kann, ist die Atmungsfläche der Luftatmer größer als die der Wasseratmer. Vielleicht am eindeutigsten gelingt der Beweis bei dem luftatmenden Fisch *Erythrinus*, der in O₂-reichem Wasser allein durch Kiemenatmung, in O₂-armem Wasser allein durch Luftatmung mit Hilfe der in eine Lunge umgewandelten Schwimmblase aktiv leben kann; beide Organe reichen also für einen genügenden Gasaustausch aus. Die Atmungsfläche der Schwimmblase ist dabei mehr als einhalb mal so groß als die der Kiemen [s. dagegen die Beobachtungen von SCHÖTTLE (1932) über die Kiemengröße der *Gobiiformes*].

Von einer anderen Seite aus sind diese Verhältnisse von VAN DAM (1938) untersucht worden, der feststellen konnte, daß der O₂-Gehalt des Atmungsmediums beim einmaligen Vorbeipassieren an den Atmungsflächen der wasseratmenden Tiere (außer gewissen Ausnahmen s. oben) bedeutend stärker herabgesetzt wird als an denen der luftatmenden Tiere. Die prozentuale O₂-Ausnutzung ist z. B. bei Fischen etwa 3mal so groß als beim Menschen. Die Kiemen der Wasseratmer stellen demnach in der Tat einen wesentlich wirksameren Apparat dar, O₂ aus einer bestimmten Menge des Atmungsmediums herauszuholen, als die Lungen der Luftatmer. Daß dies jedoch im ganzen keine Überlegenheit der Wasseratmung gegenüber der Luftatmung darstellt, sondern nur eine gewisse Anpassung an den geringen O₂-Gehalt des Wassers (nur etwa $\frac{1}{30}$ der Luft), geht aus folgenden Überlegungen von VAN DAM hervor: infolge der 3mal größeren O₂-Ausnutzung ist bei der Wasseratmung anstatt einer 30mal größeren nur eine 10 mal größere Menge Atmungsmedium an der Gasaustauschfläche zur Entnahme gleicher O₂-Mengen vorzubewegen als bei der Luftatmung. Noch ungünstiger wird dieser Vergleich für die Wasseratmung, wenn die zur Heranschaffung eines bestimmten O₂-Quantums aufzuwendende Muskelarbeit bei beiden Atmungsarten mit in Betracht gezogen wird unter Berücksichtigung der Tatsache, daß das Wasser bei 0° etwa 823mal schwerer ist als die Luft. — Auch daß einmal zur Luftatmung übergegangene Tiere diese auch bei Rückkehr zum Wasserleben beibehalten, spricht kaum für einen Vorteil der Wasseratmung. Die zum Teil komplizierten strukturellen Umwandlungen beim Übergang von der Wasser- zur Luftatmung sind meines Erachtens weniger auf bessere oder schlechtere Gasaustauschbedingungen an sich als auf die grundlegend andersartigen Verhältnisse des Milieus zurückzuführen.

So ist z. B. noch an die bekannte Tatsache zu erinnern, daß im Wasser leicht flottierende und daher in diesem Medium als Atmungsorgane besonders geeignete Gewebe in der Luft zusammenfallen und verkleben und so mechanisch zu einer beträchtlichen Verkleinerung der Gasaustauschfläche führen. Möglicherweise spielen bei dem zum Teil ziemlich schnellen Absterben der Fische an der Luft aber auch die

veränderten Kreislaufverhältnisse durch die Abknickung und Kompression der Gefäße in den zusammengefallenen Kiemen eine nicht zu unterschätzende Rolle (TAIT 1935). Zur wirksamen Verhinderung des Zusammenfallens finden sich daher bei luftatmenden *Gobiiformes* und *Brachyuren* verdickte und versteifte Kiemenlamellen, Verwachsungen usw. (SCHÖTTLE 1932, v. RABEN 1934).

c) Luftatmungsorgane anderer Wassertiere.

Außer bei den Fischen finden sich noch bei einer ganzen Reihe anderer Wasserorganismen Anpassungen an eine Luftatmung, wenn diese Tiere in einem sehr ungünstigen Atmungsmilieu leben oder zu einem zeitweiligen Luftaufenthalt gezwungen sind, wie z. B. in der Ebbe-Flutzone, in Bächen mit stark veränderlicher Wasserhöhe, in austrocknenden Gewässern usw.

Im folgenden seien noch einige Beispiele für besonders eigenartige Anpassungen kurz erwähnt. Bei 2 verwandten, im Schlamm lebenden Oligochätengattungen (*Drilocrius* und *Alma*) befindet sich am Hinterende des Körpers eine erweiterungsfähige, reich vaskularisierte Längsfurche, in der diese Würmer von der Wasseroberfläche einen Luftvorrat mit in ihr sehr O_2 -armes Biotop nehmen (CARTER und BEADLE 1931c, BEADLE 1933a). — Von PULIKOVSKY (1927) sind bei den in Bächen lebenden Puppen der *Simuliden* lufthaltige verästelte Hörner am Prothorax, „Cuticularkiemen“, beschrieben worden, die mit der Tracheenerweiterung durch eine Luftkammer in Verbindung stehen, infolge ihres Chitingerüsts nicht zusammenfallen und daher auch den Gasaustausch in der Luft bewerkstelligen können. — Bei den in Jauche, also praktisch in völlig O_2 -freiem Wasser lebenden und daher den Luft- O_2 benötigenden *Syrphiden*-Larven konnte ALSTERBERG (1934) beobachten, daß die den Jauchenrand bewohnenden Larven nur eine kurze Atemröhre, die mehr in der Mitte dieser Gewässer lebenden Arten dagegen eine durch Einpressen von Hämolymphe stark verlängerbare Röhre am Hinterende des Körpers besitzen. Besondere kontraktile Tracheensäcke dienen zur Eliminierung der in diesen langen Atemröhren befindlichen Totraumluft. Nur so ist diesen Larven eine Besiedlung dieser Gewässer überhaupt möglich. — Es sind hier auch jene merkwürdigen Anpassungen parasitisch lebender Insekten (z. B. *Blastothrix*, *Encyrtus*) zu erwähnen, die durch Atemröhren, die durch den Wirtskörper ziehend mit der atmosphärischen Luft in Verbindung stehen, atmen (nach WIGGLESWORTH 1931, THORPE 1936). — Die Kiemenhöhle ist bei den meisten der amphibisch, zum Teil ganz auf dem Lande lebenden Krabbenarten (Gecarciniden, Grapsiden, Ocypodiden) in eine geräumige Luftkammer umgewandelt, deren laterale Wandung stark vaskularisiert, zum Teil schwammartig umgewandelt und mit Zotten versehen ist („Lunge“). Die Blutgefäße bilden dort Lakunen; bei den Grapsiden und Gecarciniden sind 3—4 Kapillarsysteme zur besseren Ausnutzung des Luft- O_2 hintereinander geschaltet. Die blattförmigen Kiemen sind gegen Austrocknung durch große Kiemendeckel geschützt (v. RABEN 1934). (Über weitere Luftatmungsanpassungen bei Krabben s. HARMS 1929/33; VERWEY 1930; bei Landisopoden s. MÖDLINGER 1931.) Ähnlich wie bei den Krabben finden sich bei den am Meerufer lebenden Prosobranchiaten (*Litorina*) niedrige, vaskularisierte, nicht zusammenfallende Leisten am Dach der Mantelhöhle, oder Teilung derselben in einen Kiemen- und einen Lungenteil.

d) Anpassungen von Luftatmern an das Wasserleben.

Für die umgekehrte *Anpassung von Lufttieren* (z. B. Lungenschnecken, Insekten, Spinnen, Wirbeltiere) *an das Wasserleben* ist, wie schon erwähnt, charakteristisch, daß die Luftatmung dabei in der Regel nicht aufgegeben wird, Lungen und Tracheen bleiben erhalten (HESSE 1932); die Organismen sind jedoch bestrebt, sich für mehr oder weniger lange Zeit von der atmosphärischen Luft unabhängig zu machen.

Pulmonaten und Amphibien besitzen neben der Lungenatmung die Möglichkeit des Gasaustausches durch die Haut, der ihnen diese Unabhängigkeit besonders bei geringem O_2 -Bedarf weitgehend verleiht (DOLK und POSTMA 1927, LASKOVSKI 1930). Zusätzliche Apparate zur Ausnutzung des O_2 -Gehaltes des Wassers bei Wirbeltieren sind z. B. bei Seeschlangen (verdünnte, vaskularisierte Hautstellen [POCKRANDT 1937], wie Kiemen wirkende Kapillaranhäufungen um die Zähne des Ober- und Unterkiefers) und bei Weichschildkröten (zottige, blutreiche Fortsätze im Maul) beschrieben worden; s. auch die Beibehaltung larvaler Kiemen bei *Proteus* (nach HESSE 1932). — Bei vielen Insektenlarven mit geschlossenem gasgefülltem Tracheensystem finden sich *Tracheenkiemen*, Ausstülpungen der Körperoberfläche oder des Rektums, mit einer mehr oder weniger reichlichen Tracheenversorgung. Durch Diffusion findet ein Gasaustausch zwischen der Tracheenluft und den im Wasser gelösten Gasen statt. Die Bedeutung der Tracheenkiemen für die Atmungsvorgänge scheint jedoch für die verschiedenen Tiere sehr unterschiedlich zu sein (WIGGLESWORTH 1931, MORGAN und O'NEIL 1931, THORPE 1933; s. auch oben unter Salzwasseratmung). — Die erwachsenen Wasserinsekten mit offenem Tracheensystem müssen dagegen zum „Luftschöpfen“ an die Wasseroberfläche kommen. Die in ihrem meist geräumigen Tracheensystem enthaltene Luft dient während des Tauchens als O_2 -Vorrat (siehe z. B. VAN DAM 1938). Ihre Atemöffnungen, zum Teil auch mehr oder weniger große Teile des Körpers sind mit besonderen, wasserunbenetzbaren Vorrichtungen (Borsten usw.) versehen, die die Mitnahme eines unter Wasser ausnutzbaren Luftvorrates gestatten; auch in dem Subelytralraum kann sich ein solcher Luftvorrat befinden (BABÁK 1912, EGE 1915, HEBERDEY 1938; s. dagegen BROCHER 1931). In diese mitgenommene Luft kann noch aus dem Wasser O_2 hineindiffundieren, sie kann als „Tracheenkieme“ funktionieren (WIGGLESWORTH 1931, MALOEUF 1936). Da aus der mitgenommenen Luftblase Stickstoff (N_2) in das Wasser diffundiert (s. auch KRAMER 1935), muß der Luftvorrat nach einiger Zeit erneuert werden, die Unabhängigkeit von der atmosphärischen Luft ist nur beschränkt (bei *Notonecta* z. B. etwa 7 Stunden). Für diesen Diffusionsvorgang ist daher das Vorhandensein von N_2 (= „Empfangsphase“) in dem Luftvorrat von großer Bedeutung; bei fehlendem N_2 kann überhaupt keine Diffusion mehr stattfinden. Besteht die mitgenommene Gasblase aus reinem O_2 , so kann kein O_2 aus dem Wasser mehr hineindiffundieren. Bei Verhinderung des Luft-

holens stirbt daher z. B. *Notonecta* in O₂-gesättigtem Wasser eher ab als in luftgesättigtem Wasser (EGE 1915, WREDE und KRAMER 1926). — Bekannt ist schließlich der Bau von Luftglocken als Luftreservoir unter Wasser bei Wasserspinnen (s. BRAUN 1931).

Auch bei den tauchenden Lungenatmern handelt es sich zum Teil darum, einen möglichst großen Luft- bzw. O₂-Vorrat mit in die Tiefe zu nehmen und die mitgenommene Luft weitgehend und rationell auszunutzen. Eine reflektorische Herabsetzung der Oxydationsprozesse während des Tauchens scheint, jedenfalls bei Warmblütern, abgesehen von einer Unterdrückung überflüssiger Muskeltätigkeit und einer Herzverlangsamung, ebenso wenig wie eine größere Fähigkeit zu anaeroben Prozessen vorzukommen (LOMBROSO und ARTOM 1929, MANERY u. a. 1935, IRVING 1939).

Die Kapazität der Lungen und des schädlichen Raumes (Luftröhre usw.) ist größer als bei nicht tauchenden Tieren (JORDAN 1930 a, WISLOCKI 1929/35). Der gesamte O₂-Vorrat (in der Lungenluft und im Blut) ist bei Enten pro Kilogramm um etwa 100% größer als bei Hühnern (GUTHRIE 1926). Durch ein bis in die kleinsten Bronchien reichendes Knorpelskelettsystem werden die Luftwege offen gehalten, es können daher beim Auftauchen in sehr kurzer Zeit große Luftmengen gewechselt werden (LACOSTE und BAUDRIMONT 1933 a, b). — Zur weitgehenden Ausnutzung des O₂ des Luftvorrates dienen einmal durchmischende Atmungsbewegungen unter Wasser (SWINDLE 1926, DOTTERWEICH 1930), ferner ein erhöhter Blutdurchfluß durch die Lunge (BASTERT 1929, IRVING 1935), ein doppeltes Kapillarnetz in den Alveolen (WISLOCKI 1935 b), das Vorhandensein von Hämoglobin, z. B. bei Planorbis (s. unten) usw. Der O₂-Gehalt der Lungenluft kann beim tauchenden Frosch bis auf 1% heruntergehen (LASKOVSKI 1930). — Die bei den lungenatmenden Wirbeltieren für eine konstante Zusammensetzung der Lungenluft sorgende, atmungsregulierende CO₂-Wirkung kann bei diesen Organismen, deren Lunge als Vorratsraum dient, zum Teil ganz fehlen („Tiere mit konstanter alveolarer Gasspannung“ nach JORDAN 1926/30, BABÁK und HEPNER 1914; IRVING u. a. 1935 a, b, IRVING 1939); bei der Ente führt die CO₂ sogar zu einer peripher ausgelösten Atmungshemmung. Andererseits kann eine zu starke Zunahme der CO₂ in der Lungenluft durch vermehrte Bindung im Blut oder Ausscheidung durch die Haut verhindert sein (LACOSTE u. a. 1933 a, b, JORDAN 1930 a). Der O₂-Mangel veranlaßt das Auftauchen. — Von IRVING (1939) wird auf Grund der Untersuchungen von COMROE und SCHMIDT (1938) die Frage erörtert, ob nicht bei den tauchenden Säugern die Atmung mehr durch die peripheren, gegen O₂-Mangel besonders empfindlichen Chemorezeptoren der Aorta und der Carotidensinus als durch das medulläre, CO₂-empfindliche Atemzentrum reguliert wird, das bei der Atmung der Landsäuger die Hauptrolle spielt. — Schon bei normaler Luftatmung kommen bei tauchenden Säugetieren längere Atempausen vor (IRVING u. a.

1935 a, b, HARNISCH 1937 a). Der Atemzwang wird ferner unter Wasser durch die bei Berührung der Nasenschleimhaut mit Wasser reflektorisch ausgelöste Atmungshemmung wohl bei allen Wirbeltieren zum Verschwinden gebracht (VINCENT und CAMERON 1920). Auch das Aufblähen der Lunge ruft z. B. beim Biber eine 1—2 Minuten dauernde Apnoe hervor (IRVING 1937). — Für die Erklärung der Fähigkeit der tauchenden Säugetiere, etwa 10mal so lange als die Landsäuger die Atmung anhalten zu können [bei Walen sogar bis zu etwa 1 Stunde (s. auch LAURIE 1933)], spielen jedoch alle die Faktoren, die unter Umständen den O_2 -Vorrat vergrößern (größere Blutmenge, O_2 -Kapazität des Blutes [s. unten], Lungenkapazität, O_2 -Vorrat der Gewebe und des Fettes usw.) keine ausschlaggebende Rolle, da sie den O_2 -Vorrat höchstens um 60% erhöhen können. Wesentlich wichtiger ist die Beobachtung, daß beim Tauchen reflektorisch, ausgelöst durch CO_2 oder (wahrscheinlicher) durch das Atemanhalten selbst, eine stärkere Durchblutung des Gehirns und des Herzens bei gleichzeitiger Drosselung der Muskeldurchblutung auftritt. Die zur Versorgung aller Gewebe nicht ausreichende O_2 -Menge wird so zum größten Teil für die lebensnotwendigen und sehr O_2 -bedürftigen Organe verwandt; die auch ohne O_2 auskommen könnenden Muskeln erhalten nur den Rest. Interessanterweise handelt es sich bei all diesen Anpassungen um keine prinzipiell neuen, sondern um nur quantitativ veränderte Einrichtungen, die allen Säugern zukommen (IRVING 1939).

e) Einfluß des Sauerstoffgehaltes auf die Größe und den Aufbau der Atmungsorgane.

Daß die Höhe der O_2 -Konzentration auch einen Einfluß auf die Größe und den anatomischen Aufbau der Gasaustauschflächen zu haben scheint, ist nach den eben erwähnten Beispielen der Einpassungen in ein anderes Atmungsmedium nicht verwunderlich. Es liegen hier Beobachtungen und Vergleiche über das Vorkommen von veränderten Atmungsorganen bei naheverwandten, oder seltener denselben Organismen vor, die in Biotopen mit sehr verschiedenem O_2 -Gehalt leben.

So konnten DODDS und HISAW (1924) durch Beobachtungen in der Natur feststellen, daß die Atmungsorgane von Wasserinsekten (*Ephemeropteren*larven) in stark O_2 -haltigem Wasser reduziert sind, und daß eine deutliche Beziehung zwischen der relativen Größe der Kiemenfläche (pro Gramm Körpergewicht) und dem O_2 -Gehalt des Wassers bei einer großen Anzahl dieser Insektenlarven besteht. Die kleineren Kiemenflächen der in schneller fließendem Wasser lebenden Larven sind sicherlich mit auf den höheren O_2 -Gehalt dieses Wassers zurückführbar; die Möglichkeit einer mechanischen Beeinflussung darf dabei jedoch nicht ganz außer acht gelassen werden. Sind die Atmungsorgane einmal reduziert, dann sind diese Tiere auf besonders O_2 -haltiges Wasser angewiesen und

sterben bei plötzlichem O_2 -Mangel leicht ab. Das Charakteristische mancher Bachtiere würde danach nicht in ihrem großen O_2 -Bedürfnis (s. dagegen oben), sondern vielmehr in ihrem verringerten O_2 -Aufnahmevermögen bestehen. Bei einigen Bergwassertieren, wie *Rithrogena*, den röhrenmündigen Kaulquappen von *Megalophrys* und gewissen *Glyptosternum*-Arten, die sekundär gezwungen sind, in langsamer fließendem Wasser zu leben, entwickeln bzw. vergrößern sich die rückgebildeten Atmungsorgane wieder (HORA 1930). Eine deutliche Abhängigkeit zwischen der Größe und der Zahl der morphologisch differenzierten Kiemenanhänge und dem O_2 -Gehalt des Lebensmilieus war auch bei verschiedenen Trichopteren (*Limnophilinen*, *Rhyacophila* usw.) nachweisbar (KRAWANY 1935). Bei den Arten, bei denen dieser Zusammenhang vermißt wurde, konnten jedoch entsprechend zahlreiche Hautstellen nachgewiesen werden, die als Atmungsorgane funktionieren sollen. — Bei den *Hydracarin*en (Wassermilben), die für gewöhnlich ein gut ausgebildetes, geschlossenes Tracheensystem besitzen, fehlt dieses bei den Arten, die auf den Kiemen von *Unio* und *Anadonta* schmarotzen und daher dauernd von neuem Wasser umspült werden, überhaupt ganz oder ist nur rudimentär vorhanden [*Unicola*-Arten, *Halacariden* (SCHMIDT 1935)]. — Möglicherweise stellt auch die bedeutend größere Flachheit des nicht flimmernden Epithels der Kiemenblättchen von jungen, sich noch im Brutraum der Mutter befindlichen *Paludina vivipera* (gegenüber dem dickeren Epithel der erwachsenen Tiere) mit der Tatsache in Zusammenhang, daß die Brutraumflüssigkeit O_2 -ärmer ist als das freie Wasser (PATRASÇANU 1934). — Der in besonders O_2 -armem Wasser lebende Fisch *Erythrinus* besitzt nach CARTER (1934) einen weitaus größeren vaskularisierten Kiemenbezirk, als andere, in O_2 -reicherem Wasser lebende Teleostier im Durchschnitt haben (3,5 qcm pro Gramm Körpergewicht gegen 1,7 qcm pro Gramm). — Wegen der zumindest zweifelhaft gewordenen Atmungsfunktion der sogenannten präanal Blutkiemen der Chironomidenlarven (s. oben) kann die Beobachtung eines Parallelismus zwischen dem Vorkommen dieser Organe und der O_2 -Armut des Wohnwassers (PAUSE 1919) nur mit Vorsicht gewertet werden.

Als Hinweis dafür, daß die Beanspruchung der Atmungsorgane oder die Luftströmung selbst einen formativen Einfluß auf die Struktur und die Größe der Luftatmungsorgane auszuüben imstande ist — ähnlich wie z. B. die Belastung auf die Knochenstruktur —, seien einmal die Arbeiten von HILBER (1932—1934) erwähnt. Danach ist in den Luftsäcken der *Proteus*-Lunge, in der Frosch- und Schildkrötenlunge bis zur Säugtierlunge die gleiche Gesetzmäßigkeit im Aufbau verwirklicht, der einströmenden Luft den geringsten Widerstand durch schraubenförmige Septen bzw. schraubenförmigen Bronchialverlauf zu bieten. — Bei Mehrbelastung der Säugtierlunge, nach operativer Entfernung eines Lungenteiles, in der Höhe, kommt es durch echte Neubildung von Lungen-

gewebe zu einer Vergrößerung der atmenden Lungenoberfläche; eine einfache Dehnung reicht zur Erklärung der beobachteten Volumzunahme nicht aus (THIEMANN 1936; s. auch VACEK 1925). In Anpassung an den geringen O_2 -Druck findet sich ferner bei den dauernd in großen Höhen (Anden) lebenden Menschen ein verhältnismäßig großer Brustkorb mit weiter unterer Öffnung, ein nach abwärts gezogenes Zwerchfell und eine dadurch vergrößerte Vitalkapazität der Lunge (BARCROFT 1922), deren Gewebe sich im Zustand eines chronischen Emphysems befindet (KEYS 1938). Siehe auch die oben beschriebenen, durch den O_2 -Gehalt hervorgerufenen Konstitutionstypen von DURST (1937).

Eine experimentelle, durch verschiedenen O_2 -Gehalt hervorgerufene Abänderung der Atmungsorgane ist von DRASTICH (1925) (s. auch BABÁK 1907) versucht worden. Die Kiemenfläche von *Salamandra*-Larven war bei einem längeren Aufenthalt in O_2 -armem Wasser durch Abplattung der Kiemenfäden und Bildung von Tochterzweigen vergrößert, das Kiemenepithel abgeplattet und einschichtig. Die Kiemen gleichaltriger Larven aus O_2 -gesättigtem Wasser (ähnlich wie die frisch gefangener Tiere) waren dagegen stark rückgebildet, ihr Epithel zweischichtig und etwa 3mal so dick als das der O_2 -Mangeltiere. Die Oberfläche des Schwanzes (Hautatmung!) war bei O_2 -Mangel durch einen flachen gewellten Rand vergrößert. Eine Kompensation des O_2 - Mangels wurde durch diese Veränderungen jedoch nicht erreicht (niedrigerer O_2 -Verbrauch, Zurückbleiben im Wachstum und in der Entwicklung bei O_2 -Mangel!). Die Endprodukte der daher dauernd ablaufenden anoxybiontischen Prozesse führten zu Wasseransammlungen in den Geweben der O_2 -Mangeltiere, so daß wohl ein Teil der Kiemenvergrößerung auf Quellungsvorgänge zurückgeführt werden muß. Die von DOMS (1917) bei erhöhten Temperaturen beobachteten Veränderungen der respiratorischen Fläche von Froschlarven, die denen der O_2 -Mangeltiere sehr ähnlich waren, werden von DRASTICH auch auf den O_2 -Mangel dieser Tiere zurückgeführt. — Bei *Misgurnus fossilis* glaubte ABOLIN (1924/25), eine morphologische Adaptation an einen geringen O_2 -Gehalt und an eine dadurch hervorgerufene anhaltende Darmatmung dieses Fisches in einer starken Ausbildung von Kapillarnetzen und Blutlakunen im Atmungsabschnitt des Enddarmes gefunden zu haben. Nach SCHEURING (1925) soll es sich dabei jedoch nur um die pathologischen Veränderungen bei einer Darmentzündung infolge falscher Ernährungsweise gehandelt haben. OZOLINŠ (1935) beobachtete jedoch bei demselben Fisch bei länger dauerndem O_2 -Mangel eine Zunahme der Hämoglobinnmenge, der Zahl und der Oberfläche der Erythrozyten, die nach etwa 4 Monaten wieder verschwand. Diese Wiederabnahme soll durch die langsamer erfolgende morphologische Anpassung des respiratorischen Darmes bedingt sein.

f) Zusammenhänge zwischen dem Auftreten und den Eigenschaften der Blutfarbstoffe und den Atmungsverhältnissen der Umwelt.

Welche Rolle spielt nun das *Vorkommen von Blutfarbstoffen*, insbesondere des *Hämoglobins* (Hb) bei der Einpassung der Organismen an den O_2 -Gehalt der Umgebung? Während die höher organisierten und einen höheren O_2 -Bedarf besitzenden Wirbeltiere sämtlich Hb in ihrem Blut als respiratorischen Farbstoff haben, findet sich dieses meist nur bei solchen Wirbellosen, die in O_2 -armen Medien leben, wie z. B. *Tubifex*, *Nereis*, *Arenicola*, *Pectinaria*, *Hirudo*, *Planorbis*, *Apus*, *Chironomus*, *Lumbricus* usw. (v. BUDDENBROCK 1924, REDFIELD 1933). So besitzt z. B. von 2 *Cucumaria*-Arten nur die im O_2 -armen Schlamm wohnende Art (*C. elongata*) Hb, während die an Felsen in reinem Wasser lebende *C. saxicola* Hb-frei ist (PANTIN 1932). Das Vorhandensein eines respiratorischen Pigmentes kann also einmal ein Zeichen für die Schwierigkeiten, den O_2 -Bedarf zu befriedigen, sein, andererseits ein besonders starkes O_2 -Bedürfnis (z. B. bei Säugern) anzeigen (WOLVEKAMP 1931, s. auch FLORKIN 1934).

Es ist allerdings schon hier zu erwähnen, daß bei den Wirbellosen eine Koinzidenz zwischen dem Vorkommen von respiratorischen Farbstoffen und einem Leben in O_2 -armer Umgebung nicht immer nachzuweisen ist. So leben zwar z. B. manche Hb-freien oder Hb-armen *Chironomus*-Larven in O_2 -reichem Wasser, während schlambewohnende Arten Hb enthalten (PAUSE 1919, SCHEER 1935); aber andererseits stellen gerade die Hb-besitzenden Arten der *Tanytarsus*-Gruppe große Anforderungen an den O_2 -Gehalt der Umgebung (THIENEMANN s. unten), und *Chironomus*-Arten ohne Hb (*Prodiamesa praec.*) kommen in O_2 -armen Biotopen vor (HARNISCH 1937c, d). Hb-lose *Psectrotanypus*-Larven waren gegen O_2 -Mangel fast völlig unempfindlich, die Hb-besitzenden *Stictochironomus*-Larven dagegen sehr. Daß das Hb für den Gasstoffwechsel dieser Tiere jedoch irgendwie bedeutungsvoll ist, geht daraus hervor, daß Larven mit einem regelmäßigen und hohen Hb-Gehalt ein reduziertes Tracheensystem besitzen (SCHEER 1935).

Diese respiratorischen Farbstoffe haben bekanntlich die Eigenschaft, lockere, von dem O_2 -Druck der Umgebung abhängige, also reversible Verbindungen mit O_2 einzugehen. Diese O_2 -Bindung geht dabei nicht proportional dem O_2 -Druck vor sich, sondern bei niedrigem O_2 -Druck steigt der Gehalt des Blutes an der O_2 -Verbindung des Farbstoffes schneller an als bei höherem O_2 -Druck, es werden also schon bei niedrigem Druck große O_2 -Mengen aufgenommen. Der O_2 -Druck, der nötig ist, um weitaus die größte Menge (95%) des Blutfarbstoffes in seine O_2 -Verbindung überzuführen, wird dabei als „*Ladungsspannung*“, derjenige, bei dem die Hälfte der O_2 -Verbindung ihren O_2 wieder abgibt, als „*Entladungsspannung*“ bezeichnet (KROGH). Beide Werte können für die Blutfarbstoffe der einzelnen Organismen sehr verschieden sein (v. BUDDENBROCK 1934), wodurch erst die Anpassungen an die unterschiedlichen O_2 -Verhältnisse der Umwelt verständlich werden. Es ist klar, worauf jedoch häufig nicht genügend Wert gelegt wurde, daß weniger der

Hb-Besitz an sich als die Höhe dieser Werte, der Verlauf der „*O₂-Dissoziationskurve*“ des betreffenden Hb ausschlaggebend für die verschiedenen Funktionen ist, die das Hb auszuüben imstande ist¹ (JORDAN 1928). Ganz allgemein kann gesagt werden, daß ein Farbstoff mit einer steilen und weit nach links (in dem üblichen Aufzeichnungsschema) verschobenen Dissoziationskurve am günstigsten für die O₂-Ausnutzung eines sehr O₂-armen Mediums ist. Je mehr es bei ausreichend hohem O₂-Gehalt darauf ankommt, den Geweben viel O₂ unter hohem O₂-Druck (zu möglichst großer Arbeitsleistung) zur Verfügung zu stellen, desto flacher und nach rechts sind die Kurven verschoben [s. in Abb. 6 das Vogelblut (WASTL und LEINER 1931)].

Diese Eigenschaften der Blutfarbstoffe können auch durch verschiedene Faktoren der Umwelt verändert werden. Außer CO₂ (s. unten) besitzt die Temperatur einen weitgehenden Einfluß auf den Verlauf der Dissoziationskurve (BARCROFT und KING 1909). Die O₂-Affinität nimmt mit sinkender Temperatur zu, die Dissoziationskurve wird steiler und nach links verschoben. Auf die Bedeutung dieses Einflusses zur Erklärung der „Temperaturgebundenheit“ mancher Kaltblüter ist schon hingewiesen worden.

Außer dem Hb sind noch 2 Eisen enthaltende respiratorische Farbstoffe [*Chlorocruorin* bei Sabelliden, Serpuliden und Chlorhämiden, und *Hämerythrin* (FLORKIN 1933) bei den *Sipunculoideae*] bekannt geworden und die anstatt des Eisens Kupfer enthaltenden *Hämocyanine* (STEDMAN 1925, REDFIELD 1934, WOLVEKAMP 1938), die sich bei zahlreichen Krebsen und Mollusken finden (s. auch ROCHE 1934, FLORKIN 1934/35). Die O₂-Affinität und die Dissoziationskurve ist beim Chlorocruorin von *Spirographis* der des menschlichen Hb sehr ähnlich (FOX 1932/34). Die Eigenschaften der Hämocyanine können entsprechend der Lebensweise ihrer Besitzer weitgehend verschieden sein (REDFIELD und HURD 1925, REDFIELD, COOLIDGE u. a. 1926). Nach PANTIN (1932) haben sich diese Farbstoffe unabhängig in den verschiedensten Tiergruppen eingestellt, was auch bei anderen Anpassungen, z. B. der Luftatmung der Fische, zu beobachten ist, sie müssen unvermittelt in fertiger, funktionsfähiger Form und nicht auf Grund einer allmählichen Entwicklung auftreten, da ja nur das fertige Molekül als O₂-Träger funktionieren kann.

Während 1 g Hb 1,34 ccm O₂ maximal binden kann, kann 1 g Hämocyanin nur 0,51 ccm O₂ aufnehmen (JORDAN 1925). Entsprechend der Art und der sehr wechselnden Menge des in einem bestimmten Blut vorhandenen Farbstoffes ist der O₂-Gehalt des betreffenden Blutes (= O₂-Kapazität) ein sehr verschieden großer; er beträgt z. B. bei Säugtieren etwa 20 ccm O₂, bei *Planorbis* nur etwa 2 ccm O₂ in 100 ccm Blut. Auf Einzelheiten kann nicht näher eingegangen werden. Hier ist nur die

¹ In der O₂-Dissoziationskurve wird die Menge der O₂-Verbindung des Hb (= O₂-Hb), ausgedrückt in Prozenten der bei O₂-Sättigung im Blut vorhandenen O₂-Hb-Menge zum O₂-Druck in Beziehung gebracht. — Je niedriger die Ladungsspannung des Farbstoffes ist, desto größer ist seine „O₂-Affinität“.

Tatsache von Wichtigkeit, daß das Blut infolge des Gehaltes an diesen respiratorischen Farbstoffen mehr O_2 von den Aufnahmeatmungsflächen zu den Geweben hintransportieren kann als ohne dieselben. So ist z. B. im Menschenblut etwa 40mal mehr O_2 gebunden an Hb als in der Blutflüssigkeit gelöst; entsprechend dem geringeren Blutfarbstoffgehalt liegen die Werte für das Wirbellosenblut natürlich niedriger. Diese größere Leistungsfähigkeit des farbstoffhaltigen Blutes erklärt z. B. nach SCHEER (1935), daß die Hb-besitzenden *Chironomus*-Arten den O_2 -Vorrat einer abgeschlossenen Wassermenge bedeutend schneller verbrauchen (und daher auch schneller absterben) als Hb-freie oder Hb-arme Arten. Da die viel Hb enthaltenden Arten einen höheren Energieumsatz und damit zusammenhängend ein bedeutend rascheres Wachstum und Entwicklung besitzen sollen als Hb-arme Arten (SCHÄPERCLAUS 1925), liegt die Bedeutung des Hb bei diesen Tieren nach SCHEER darin, den normalen, hohen O_2 -Bedarf auch in O_2 -armem Wasser schnell genug decken zu können. Auch bei den höheren Wirbeltieren besteht die Hauptaufgabe ihres Hb darin, möglichst viel O_2 zu den Geweben zu bringen und dort rasch abzugeben. Wegen der gleich noch zu erwähnenden andersartigen Eigenschaften hat das Hb bei den meisten Wirbellosen dagegen andere Aufgaben zu erfüllen.

Die Tatsache, daß die O_2 -Verbindung des Hb im Blut einen mehr oder weniger großen O_2 -Vorrat darstellt, führten J. und H. BARCROFT (1924) zu der Annahme einer O_2 -Speicherfunktion des Hb. Die gesamte O_2 -Menge des Blutes von *Arenicola* reicht etwa eine Stunde für einen normalen O_2 -Verbrauch, und das ist auch die Zeit, die dieser Wurm gewöhnlich eingeatmet in seiner Höhle bei eingestellter Ventilation verbringt. Während der Ebbe, wo unter Umständen für längere Zeit die normale Versorgung mit O_2 -haltigem Wasser fehlt, können außer diesem O_2 -Vorrat auch noch die geringen O_2 -Mengen des umgebenden Wassers wegen der besonderen Eigenschaften dieses Hb ausgenutzt werden. Die gleichen Verhältnisse scheinen bei *Urechis caupo* (REDFIELD und FLORKIN 1931) und bei *Nereis* vorzuliegen (VAN DAM 1938). Der O_2 -Vorrat des Blutes von *Planorbis* reicht etwa 18—25 Minuten für den Betriebsstoffwechsel aus (BORDEN 1931). — Auch die gelegentlich zu beobachtenden Atempausen der Fische sollen durch den O_2 -Vorrat ihres Hb ermöglicht werden (VAN DAM 1938). Für die meisten Organismen kommt jedoch wegen der Kleinheit dieses Speichers diese Funktion des Hb kaum in Betracht (LEITCH 1915, HARNISCH 1936). Bei *Chironomus*-Larven reicht dieser O_2 -Vorrat des Hb nur etwa 12 Minuten. Die Beobachtung von PAUSE, daß junge noch Hb-lose *Chironomus*-Larven nur etwa $1\frac{3}{4}$ Stunden ohne O_2 leben können, während ältere Stadien mit Hb 57 Stunden ohne O_2 am Leben erhalten werden können, kann daher nicht auf die Ausbildung eines derartigen O_2 -Speichers zurückgeführt werden. Nach JORDAN (1926) handelt es sich dabei vielmehr um 2 sich gleichzeitig verändernde, unabhängige Anpassungen bei diesen Larven:

Zunahme des Vermögens, ohne O_2 zu leben, und mittels Hb noch geringe O_2 -Mengen der Umgebung auszunutzen.

Ganz allgemein wurde bis jetzt angenommen, daß das Hb bei den in O_2 -armen Biotopen lebenden Wirbellosen [z. B. Regenwurm (JORDAN und SCHWARZ 1920, DOLK und v. D. PAAUW 1929)] dazu dient, bei dem sehr niedrigen O_2 -Druck, bei dem die anderen respiratorischen Mechanismen schon versagen, die normale Atmungsgröße aufrechtzuerhalten, und den wenigen O_2 der Umgebung noch nutzbar zu machen¹ (s. auch JÜRGENS 1935). Durch die Bindung des O_2 an das Hb wird das Druckgefälle zwischen Medium und Blut vergrößert; da nur der gelöste O_2 für

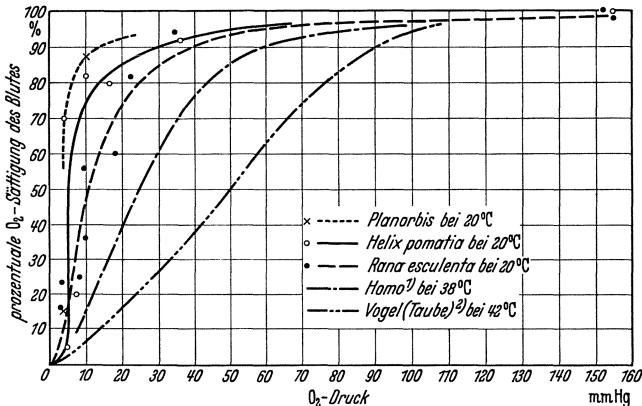


Abb. 6. O_2 -Dissoziationskurven des Hämoglobins verschiedener Tiere (nach WOLVEKAMP 1931 und WASTL und LEINER 1931). ¹ Nach BARCROFT. ² Nach WASTL und LEINER. Beide bei einer CO_2 -Spannung von 40 mm Hg.

die O_2 -Spannung des Blutes in Betracht kommt, bleibt die O_2 -Spannung des Blutes bis zur vollständigen Umwandlung des Hb in seine O_2 -Verbindung niedriger als die der Umgebung, es kann so lange O_2 nachströmen. Bei 0,4% O_2 vermag daher z. B. der Regenwurm noch 50% des von ihm benötigten O_2 aus der Umgebung aufzunehmen. Das Hb vieler Wirbelloser ist wegen seiner sehr niedrigen Ladungs- und Entladungsspannung (sehr steiler Verlauf der O_2 -Dissoziationskurve, s. Abb. 6), dazu befähigt [Entladungsspannung z. B. bei *Chironomus* 0,17 mm Hg gegen 18 mm Hg beim Kabeljau (LEITCH)]. Die Hauptmenge des O_2 wird von *Arenicola*-Hb bei einem O_2 -Druck von 1—3 mm Hg aufgenommen (J. und H. BARCROFT 1924). Bei hohem und mittlerem O_2 -Druck gibt dieses O_2 -Hb seinen O_2 nicht ab, kann also als O_2 -Überträger nicht funktionieren; erst bei derartig niedrigem O_2 -Druck tritt es zusätzlich in Tätigkeit. Das Hb von *Arenicola* gibt seinen O_2 erst ab, wenn der O_2 -Druck unter

¹ Über einen Zusammenhang zwischen dem O_2 -Bindungsvermögen von Insektenblut (*Calliphora*-Larven und *Lasiocampa*-Raupen) und den O_2 -Verhältnissen ihres Biotops s. KOSHANCHIKOV (1938).

3 mm Hg gesunken ist (J. und H. BARCROFT). Nach HAZELHOFF (s. auch PROBST 1933) hat das Hb der luftatmenden Wasserschnecke *Planorbis* die Bedeutung, daß der Luftvorrat der Lunge gleichmäßig und gründlich (bis zu 1% O₂) verbraucht wird. Es kann wegen seiner Eigenschaften erst zusätzlich in Tätigkeit treten, wenn der O₂-Gehalt in der Lunge unter 16% gesunken ist. Seine Funktion wird deutlich, wenn man diese Schnecke mit der in demselben Milieu lebenden *Limnaea*, die nur ein weniger wirksames Hämocyanin besitzt, vergleicht: der O₂-Gehalt in der Lunge kurz vor dem Luftschnappen beträgt bei *Limnaea* 13%, bei *Planorbis* 4%; das Luftschnappen erfolgt bei letzterer entsprechend seltener (etwa halb so oft), was wohl auch mit durch den an das Hb gebundenen O₂-Vorrat bedingt ist.

Für diese Auffassung, daß das Hb der Wirbellosen hauptsächlich zur Ausnutzung niedriger O₂-Drucke dient, sprach ferner, daß nach HARNISCH (1927) Hb- enthaltende *Chironomus*-Larven (*Chir. Tunmii*) ihren optimalen O₂-Verbrauch bei noch tieferen O₂-Drucken (1—2%) aufrecht erhalten konnten als farblose, in O₂-reicherem Medium lebende Arten (etwa 6% bei *Prodiamesa*¹). Auch bei künstlicher Ausschaltung des Hb des Regenwurms durch Kohlenoxyd (CO) blieb bei normalem O₂-Druck der O₂-Verbrauch unverändert (s. dagegen KRÜGER 1938). Die Bedeutung des Hb zeigte sich erst bei niedrigem O₂-Druck: der O₂-Verbrauch normaler Tiere sank erst bei einem O₂-Gehalt von 2,5% ab, der CO-vergifteter Tiere schon bei 7,5% (DOLK und v. D. PAAUW 1929; über ähnliche Ergebnisse bei *Tubifex* s. DAUSEND 1931, bei *Planorbis* s. PROBST 1933).

Die Verhältnisse scheinen jedoch komplizierter zu liegen. Die eben erwähnten Ergebnisse der CO-Versuche konnten nämlich von THOMAS (1935) nicht bestätigt werden. Gerade bei erniedrigtem O₂-Druck ergab sich hier kein Unterschied in der Atmungsgröße normaler und CO-vergifteter Tiere, dagegen war der bei einem O₂-Druck oberhalb von 15% bei normalen Tieren zu beobachtende, mit der O₂-Konzentration parallel verlaufende Atmungsanstieg nach Ausschaltung des Hb verschwunden. Die durch CO nicht beeinflusste Konstanz der Atmungsgröße zwischen 3 und 15% O₂ kann also mit irgendwelchen Leistungen des Hb nichts zu tun haben; sie wird auf eine vielleicht vorhandene, bis jetzt noch unbekannte Regulierung durch Blutkapillarreaktionen zurückgeführt. Über die Rolle des ja doch vorhandenen Hb wird nichts weiter ausgesagt.

¹ Wobei allerdings auch wieder hinzugefügt werden muß, daß auch Hb-haltige, aber ein O₂-reiches Milieu beanspruchende Arten ihren O₂-Verbrauch schon bei ziemlich hohen O₂-Drucken (5—6%) absinken ließen. Das unterschiedliche ökologische Verhalten dieser Larven gegenüber dem O₂-Gehalt der Umgebung wurde daher später von HARNISCH (1933b) auf ein verschiedenes Zusammenspiel aktiver und passiver respiratorischer Anpassungen (s. oben) zurückgeführt (s. auch weiter unten).

HARNISCH (1936/37) hat nun neuerdings versucht, mit der von ihm aufgestellten These von der Doppelnatur der Oxybiose wirbelloser Tiere (s. unten) eine Erklärung für die ökologische Bedeutung des Hb bei diesen Tieren zu geben. Da die Atmung von vorher in O_2 lebenden Tieren (primäre Oxybiose) beim O_2 -Druck der Luft durch CO nicht herabgesetzt wird, wohl aber der O_2 -Verbrauch vorher mit N_2 behandelte Tiere (sekundäre Oxybiose) (s. auch DAUSEND 1933), soll eine wichtige Funktion des Hb dieser Tiere (*Tubifex*, *Chironomus*) die ständige Beschleunigung der Erholungsatmung, der sekundären Oxybiose, auch bei höheren O_2 -Drucken darstellen. Es wird dabei schon von HARNISCH selbst darauf hingewiesen, daß die Geschwindigkeit der Erholung nach einer Anaerobiose nicht immer mit dem Hb-Gehalt der betreffenden Tiere parallel zu verlaufen braucht. So geht zwar der erhöhte O_2 -Verbrauch nach einem O_2 -Mangel bei dem Hb enthaltenden *Tubifex* viel schneller zurück als bei der Hb-losen *Periplaneta* (DAVIS und SLATER 1926) oder *Planaria*; bei der sehr viel Hb-reicheren *Chironomus*-Larve dauerte die sekundäre Oxybiose jedoch beträchtlich länger. Während bei O_2 -Tieren, also primärer Oxybiose, das Hb entsprechend der oben erwähnten Annahme nur bei niedrigem O_2 -Druck zur Aufrechterhaltung der Atmungsgröße unterstützend einzugreifen scheint, und bei höheren O_2 -Drucken (über 11%) am O_2 -Transport nicht beteiligt ist, soll es die Prozesse einer sekundären Oxybiose bei niedrigem O_2 -Druck ermöglichen, bei höheren Drucken beschleunigen, und so der Anhäufung von anoxybiontischen Stoffwechselprodukten entgegenarbeiten. Aufzuklären bleibt dabei nur, wie das Hb trotz seiner so niedrigen Entladungsspannung auch bei einem höheren O_2 -Druck in der Umgebung als O_2 -Überträger funktionieren kann. Die sich widersprechenden Versuchsergebnisse früherer Autoren werden auf das verschiedene Ausmaß sekundär oxybiontischer Prozesse bei dem Untersuchungsmaterial zurückgeführt, da auch nach O_2 -Behandlung eine sekundäre Oxybiose beim Regenwurm nur schwer, bei anderen, normalerweise unter schlechten Atmungsbedingungen lebenden Tieren zum Teil gar nicht ausschaltbar ist. Es scheint jedoch zur völligen Klärung dieser Verhältnisse noch weiterer Untersuchungen zu bedürfen; die so speziellen Anpassungen gerade der Chironomidenlarven sind sicher nur bei Berücksichtigung vieler Faktoren verständlich.

Auch das Hb der einzelnen Wirbeltiere zeigt in bezug auf die Größe dieser kritischen Werte (Ladungs- und Entladungsspannung) sehr beträchtliche Unterschiede, die als Einpassungserscheinungen an die O_2 -Verhältnisse der betreffenden Umwelten aufzufassen sind. So wurde zuerst von KROGH und LEITCH (1919) bei Fischen darauf hingewiesen, daß das Blut des Karpfens, des Hechtes und des Aales bei sehr viel niedrigerem O_2 -Druck mit O_2 gesättigt ist, eine größere O_2 -Affinität besitzt als das Blut der Forelle, des Kabeljaus oder der Scholle, die im Gegensatz zu den erstgenannten Fischen in O_2 -reicherem Wasser leben und sehr viel schlechter einen O_2 -Mangel auszuhalten imstande

sind. Auch der in Wasser mit sehr niedrigem O_2 -Gehalt lebende *Opsanus tau* besitzt Hb mit einer sehr niedrigen Ladungsspannung (HALL 1929, ROOT 1934). Eine ähnliche Beziehung zwischen den Eigenschaften des Hämocyansins und der Lebensweise konnte von REDFIELD und HURD (1925, 1926) bei *Loligo* und *Limulus* festgestellt werden: der gegen O_2 -Mangel sehr empfindliche, pelagisch in luftgesättigtem Wasser lebende *Loligo* besitzt ein Hämocyansin mit geringer O_2 -Affinität (Ladungsspannung 160 mm, Entladungsspannung 75 mm Hg), während das Hämocyansin des im Sande vergraben lebenden, gegen O_2 -Mangel sehr widerstandsfähigen *Limulus* eine große O_2 -Affinität hat (Ladungsspannung 35 mm, Entladungsspannung 10 mm Hg).

Die seit langem bei Warmblütern bekannte Wirkung der CO_2 , die O_2 -Dissoziationskurve des Hb nach rechts zu verschieben (BOHR u. a. 1904) ist bei den untersuchten Meerestischen und der Forelle besonders stark entwickelt (KROGH und LEITCH 1919, ROOT 1934). Diese Eigenschaft des Hb, durch die also in Wasser mit mehr oder weniger hoher CO_2 -Spannung die O_2 -Aufnahme erschwert, die Ladungsspannung erhöht wird, ist für Fische aus Gewässern mit niedriger CO_2 -Spannung und hohem O_2 -Gehalt (Bächen, Meer) belanglos. Bei ihnen ist dagegen von großem Vorteil, daß durch diese Eigenschaft der O_2 des Hb in den Geweben durch die dort gebildete CO_2 leicht und schnell abgegeben wird und so ein aktiveres Leben erlaubt. Anders dagegen bei vielen Süßwasserfischen, hauptsächlich solchen aus stehenden Gewässern (Sümpfen usw.), deren CO_2 -Druck bis zu 32 mm Hg ansteigen kann (CARTER und BEADLE (1931 a). Bei diesem CO_2 -Gehalt und bei dem gleichzeitig niedrigen O_2 -Gehalt in den Sümpfen würde das Hb der Meerestische als O_2 -Überträger praktisch nutzlos sein. WILLMER (1934) konnte bei der Untersuchung einer Reihe von Süßwasserfischen (s. auch BLACK und IRVING 1934), die im Wasser von sehr verschiedenem O_2 - und CO_2 -Gehalt lebten, zeigen, daß das Hb dieser Fische bei sonst sehr ähnlichen Eigenschaften sich sehr verschieden gegenüber CO_2 verhält: Fische aus fließendem, O_2 -reichem Wasser besaßen ein auf CO_2 sehr stark reagierendes Hb, Sumpffisch-Hb wurde dagegen durch CO_2 kaum beeinflußt. Dieser unterschiedliche Einfluß der CO_2 auf das O_2 -Aufnahmevermögen des Blutes und damit des Organismus spielt bei der Verteilung der Fische in den einzelnen Biotopen sicher eine große Rolle. Nur Fische mit einem gegen CO_2 unempfindlichen Hb können in schlecht durchlüftetem Wasser leben (s. auch v. LEDEBUR 1937). Die große Empfindlichkeit mancher Fische gegenüber CO_2 (SHELFORD u. a. 1913 a, b), das Auftreten von Fischsterben bei zu hohem CO_2 -Gehalt (POWERS 1934) usw. wird so durch Zurückführung auf die Herabsetzung des O_2 -Aufnahmevermögens verständlich¹. Nicht angängig ist es meines Erachtens jedoch,

¹ Siehe in diesem Zusammenhange auch das neben anderen Maßnahmen praktisch angewandte Einstreuen von Ätzkalk in Fischteichen bei hochgradigem O_2 -Mangel (SCHAEFERCLAUS 1933).

jede CO_2 -Wirkung bei den Fischen auf einen O_2 -Mangel zurückführen zu wollen, da ja nicht bei allen Fischen ein derartiger CO_2 -Einfluß auf das O_2 -Bindungsvermögen besteht (s. oben unter Atmungsregulation). Es sei darauf hingewiesen, daß die CO_2 -Wirkung auf das Hb gerade bei Sumpffischen fast fehlt, die häufig zur Luftatmung übergehen, wobei es infolge der inneren Lage der akzessorischen Luftatmungsorgane in der Regel zu einer Erhöhung des CO_2 -Gehaltes der Atemluft kommt (s. oben). — Ähnliche Verhältnisse scheinen beim hämocyandinhaltigen Blut vorzukommen: CO_2 setzte bei dem in O_2 -reichem Wasser lebenden *Loligo* die O_2 -Affinität herab, bei dem im O_2 -armen Sande lebenden *Limulus* wurde die O_2 -Affinität durch CO_2 sogar erhöht (REDFIELD und HURD).

Besonders bei Seefischen scheint auch noch ein Zusammenhang zwischen der O_2 -Kapazität und -Affinität des Blutes und der Lebensweise (Aktivität) der Fische zu bestehen (HALL 1929, ROOT 1931, HALL und McCUTCHEON 1938). Lebhaftere, frei schwimmende Meeresfische (z. B. die Makrele) besitzen Blut, das mehr O_2 aufzunehmen imstande ist, dafür aber eine geringere O_2 -Affinität besitzt als das von Fischen mit einer trägeren Lebensweise (*Lophius piscat.*, *Opsanus tau*), die nach HALL (1930) auch weniger O_2 verbrauchen als aktive Fische. Bei geringerer O_2 -Affinität wird der O_2 leicht vom Blut an die Gewebe abgegeben, die daher stark aktiv sein können. Bei Süßwasserfischen scheinen dagegen nach den Untersuchungen von WILLMER (1934) eher die Gasverhältnisse der Umgebung als die Lebensweise zu der O_2 -Kapazität des Fischblutes in Beziehung zu stehen.

Auch bei den *Amphibien* ist das Hb mit seinen Eigenschaften an die respiratorischen Bedingungen des Aufenthaltsortes seiner Träger angepaßt (McCUTCHEON und HALL 1937). Die ständig im Wasser lebenden Urodelen, die besonders leicht einem niedrigen O_2 -Druck ausgesetzt sind und ihn auch auszuhalten imstande sind, besitzen ein Hb mit sehr niedriger Ladungs- und Entladungsspannung; bei den am meisten an das Landleben angepaßten Kröten ist die Entladungsspannung am höchsten. Entsprechend dem Übergang vom Wasser zum Landleben findet eine Verschiebung der O_2 -Dissoziationskurven der betreffenden Hb-Arten von links nach rechts statt, wobei die Kurvenform gleichzeitig S-förmiger wird (s. Abb. 7). Die hohe Entladungsspannung gewährleistet den Landarten eine für einen gesteigerten Stoffwechsel besonders günstige O_2 -Abgabe in den Geweben.

Eine ähnliche Veränderung der Eigenschaften des Hb findet sich auch bei dem durch den Entwicklungsgang bedingten Wechsel vom Wasser zum Landleben der einzelnen Amphibienarten. Die O_2 -Dissoziationskurve verschiebt sich mit der Froschentwicklung nach rechts. Bei den oft O_2 -armes Wasser atmenden Kaulquappen ist z. B. bei einem O_2 -Druck von 5 mm Hg schon 50% O_2 -Hb vorhanden, beim Frosch dagegen nur 5%. Durch CO_2 wird die O_2 -Affinität des Kaulquappen-Hb sogar noch erhöht, beim Frosch-Hb jedoch wie bei den Warmblütern erniedrigt.

Diese verschiedenen Hb-Arten sollen dabei nacheinander in den verschiedenen Blutbildungsstätten dieser Tiere (erst Mesonephros, dann Milz und Knochenmark) gebildet werden (McCUTCHEON 1936). Nach Entfernung der Milz sinkt die O_2 -Affinität des Froschblutes, das isolierte Milzblut besitzt eine höhere Affinität als das Körperblut (McCUTCHEON 1938).

Zwischen dem fetalen Blut und dem Blut erwachsener Säugetiere sind entsprechende Unterschiede, wie sie eben bei der Amphibienentwicklung beschrieben wurden, nachweisbar (BARCROFT 1933/36). Die O_2 -Dissoziationskurve des Hb des Fetus, dessen Plazentaratmung ja einen Gasaustausch in einem wäßrigen Medium mit unter Umständen niedrigem O_2 -Gehalt darstellt, ist im Verhältnis zur normalen Kurve des erwachsenen Organismus nach links verschoben, es besitzt eine größere O_2 -Affinität (s. dagegen NOGUCHI 1937). Das fetale Blut ist bei gleicher O_2 -Spannung um etwa 20% stärker mit O_2 gesättigt als das mütterliche Hb. Die auch bei den Säugetieren im Lauf der Entwicklung sich in der Funktion

ablösenden Blutbildungsstätten können möglicherweise ebenfalls mit diesen veränderten Hb-Eigenschaften in Beziehung gebracht werden (McCUTCHEON 1936). Der ziemlich große Unterschied zwischen fetalem und mütterlichem Blut wird allerdings zum Teil durch die Säuerung des mütterlichen Blutes während der Schwangerschaft hervorgerufen, die eine Verschiebung der O_2 -Dissoziationskurve nach rechts bewirkt und so die O_2 -Abgabe begünstigt. Der Gasaustausch in der Plazenta [ebenso wie in den Kiemen der Fische (VAN DAM 1938)] wird ferner durch ein gegensinniges Aneinandervorbeiströmen der beiden in Beziehung tretenden Flüssigkeiten stark unterstützt (BARCROFT 1934).

Bei den Warmblütern könnten Anpassungen der Blutbeschaffenheit an einen O_2 -Mangel für die im Wasser lebenden und tauchenden Arten und für die in großen Höhen lebenden Tiere zu erwarten sein. Bei den tauchenden Warmblütern sind bis jetzt höchstens graduelle, jedoch keine prinzipiellen Unterschiede der Bluteigenschaften gegenüber denen anderer Landwarmblüter gefunden worden (IRVING 1939). Die Form

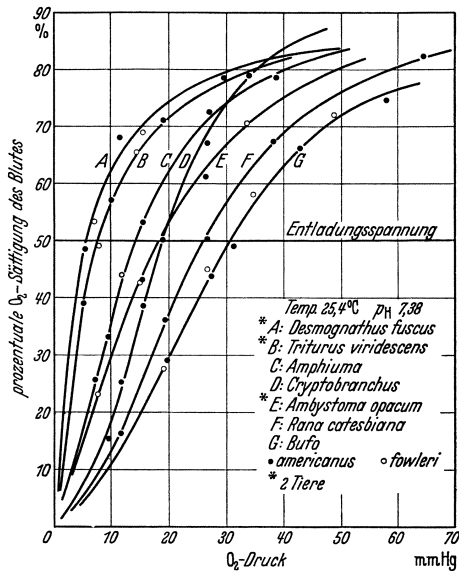


Abb. 7. O_2 -Dissoziationskurven des Hämoglobins verschiedener Amphibien (nach McCUTCHEON und HALL 1937). A—D hauptsächlich Wasseratmer; E—G hauptsächlich Luftatmer.

der O₂-Dissoziationskurve des Blutes des Seehundes (IRVING u. a. 1935) und des Seelöwen (FLORKIN u. a. 1931) ist dieselbe wie die anderer Säuger, bei der Ente ist sie, jedenfalls in ihrem unteren Teil (bis 50% Sättigung), im Verhältnis zur Kurve anderer Vögel nach links verschoben (WASTL und LEINER 1931). Beim Seehund und Tümmeler (SUDZUKI 1924, s. dagegen GREEN und REDFIELD 1933) ist allerdings das O₂-Aufnahmevermögen des Blutes besonders groß (29,3 bzw. 42,5 Vol.-%); der O₂-Vorrat des Blutes reicht beim Seehund aber trotzdem nur 2 Minuten (bei Ruhestoffwechsel). Die Hb-Konzentration in den einzelnen (beim Seehund sehr kleinen) Erythrozyten scheint bei allen diesen Tieren hoch zu sein (etwa $\frac{1}{3}$ höher als bei anderen Landsäugetern), wodurch ein besonders schneller Gasaustausch ermöglicht wird (IRVING 1939). Anpassungen an den zeitweise sehr niedrigen O₂-Gehalt in der Lunge müssen jedoch durch andere Besonderheiten, z. B. des Kreislaufes in den Geweben, die auch die fast völlige Ausnutzung des O₂ des Blutes ermöglichen, wie die der Hb-Eigenschaften bedingt sein (siehe z. B. auch den sehr hohen Hb-Gehalt im Muskel).

Dagegen besitzen einige an große Höhen gut angepasste und dauernd dort lebende Säugetiere und Vögel (*Lama huanachus* und *vicugna*; *Rhea americ.*, *Chloephaga*) ein Hb mit sehr großer O₂-Affinität (HALL u. a. 1936; HALL 1937). Die Lage der O₂-Dissoziationskurve des Hb des Menschen und anderer normalerweise im Flachland lebender Säugetiere wird jedoch in der Höhe kaum verändert (KEYS 1938; s. dagegen BARCROFT 1922): einer im Beginn der Anpassung auftretenden Affinitätsverminderung wirkt eine Verschiebung der Kurve nach links entgegen, die durch die alkalischere Reaktion des Blutes (infolge der vermehrten CO₂-Abgabe bei der Atmungssteigerung in der Höhe) bedingt ist. — Sehr deutlich ist dagegen die Zunahme der O₂-Kapazität des Blutes infolge einer Zunahme des Hb-Gehaltes und der Erythrozytenzahl; sie kann beim Menschen bei guter Anpassung an etwa 5000 m Höhe mehr als 50% betragen. Auch ohne Zunahme der Blutumlaufgeschwindigkeit¹ kann so trotz der geringeren O₂-Sättigung des Hb noch genügend O₂ zu den Geweben gebracht werden. Die in der Höhe auftretenden Störungen (Bergkrankheit) sind daher weniger auf das relativ geringere Absinken des O₂-Gehaltes des Blutes als auf den viel stärker abfallenden O₂-Druck zurückzuführen (FLEISCH 1932). Die Neubildung von Erythrozyten soll durch den O₂-Mangel selbst, nicht durch die stärkere Ultraviolettstrahlung in der Höhe, wie früher angenommen wurde (KESTNER 1921, LÖVINSON 1930), hervorgerufen werden (KEYS 1938). Schnell auftretende Erhöhungen der Erythrozytenzahlen im Beginn des Aufenthaltes in größeren Höhen können die Folge eines Plasmaaustrittes aus dem Blut (ABDERHALDEN) oder einer auch sonst bei O₂-Mangel auftretenden Entleerung der Blutdepots, insbesondere der

¹ Für eine erfolgte Anpassung ist sogar eine Herzverlangsamung charakteristisch (zur Herzschonung).

Milz sein (BINET u. a. 1926). Die Höhenpolyzythämie ist bei Säugetieren keine allgemeine Reaktion; sie wurde ferner bei Reptilien (RICHTER 1933) und bei Fischen [auf O₂-Mangel (SCHLICHER 1927)] nachgewiesen. — Bei den besonders gut an die Höhe angepaßten Vikuñas wird dabei durch eine besondere Kleinheit der Blutkörperchen — bei entsprechend großer Anzahl — eine sehr große Oberfläche für eine schnelle O₂-Diffusion zwischen Zellen und Blutplasma bereitgestellt (HALL 1937). — Die wichtigste Anpassung ist nach KEYS (1938) jedoch in den Geweben selbst zu suchen, die es lernen (wohl durch Eröffnung früher geschlossener Blutkapillaren, durch Veränderung ihres Oxydoreduktionssystems usw.) trotz des verminderten Druckes und einer geringeren O₂-Sättigung des Blutes die normalen Funktionen auszuüben.

V. Einfluß des Sauerstoffdruckes auf den Sauerstoffverbrauch.

Es ist nun noch auf die alte Streitfrage einzugehen, ob die Größe der biologischen Verbrennungsprozesse von der O₂-Konzentration der Umgebung abhängig ist (THUNBERG), wie es z. B. bei einfachen chemischen Reaktionen (Massenwirkungsgesetz) der Fall ist, oder ob diese Größe, wie es schon PFLÜGER annahm, durch die lebende Zelle selbst reguliert und auf gleicher Höhe gehalten wird.

Es würde eine sehr einfache Anpassung darstellen, wenn beim Absinken des O₂-Druckes in der Umgebung gleichzeitig der O₂-Verbrauch des Organismus entsprechend herabgesetzt würde (siehe z. B. HALL 1929). Dabei würde jedoch nicht verständlich sein, warum, natürlich unter Voraussetzung derselben Lebensvorgänge, die Prozesse normalerweise mit einem hohen O₂-Verbrauch einhergehen, wenn dasselbe auch mit einer geringeren O₂-Menge geleistet werden kann. Anders liegen natürlich die Verhältnisse, wenn bei O₂-Mangel gleichzeitig mit dem geringeren O₂-Verbrauch eine Einstellung nicht unbedingt lebensnotwendiger Prozesse (Bewegungen usw.) erfolgt, und es zur Ausbildung von „Ruhezuständen“ kommt, wie es bei einer Reihe von Kaltblütern zu beobachten ist [„asphyktische Starrezustände“ bei Würmern, *Termopsis* usw. (v. BRAND 1934a, COOK 1932)]. Auch bei den Muscheln (*Anadonta*), bei denen Tätigkeitszustände mit Ruhezuständen abwechseln, wird durch O₂-Mangel die Dauer des Ruhezustandes gefördert (GARTKIEWICZ 1922). Es darf bei Beurteilung dieser Ruhezustände jedoch nicht außer acht gelassen werden, daß dabei auch aus anoxydativen Prozessen Energie gewonnen werden kann, und daß dann der während dieser Zeit nicht verbrauchte O₂ nachträglich, bei günstigeren O₂-Bedingungen, aufgenommen wird [siehe z. B. *Mya arenaria* (VAN DAM 1938)]. — Auch die Beobachtungen von GOMPEL (1937) gehören wohl hierher, der bei einer Anzahl mariner Ufertiere (Coelenteraten, Echinodermen, Würmern, Mollusken, Crustaceen und Fischen) einen deutlichen Rhythmus in der Größe des O₂-Verbrauches, auch noch längere Zeit im Aquarium, feststellen konnte, wobei die Maxima den Flutzeiten, die Minima den Ebbezeiten entsprechen.

Dieser Einfluß des O₂-Druckes der Umgebung auf den O₂-Verbrauch der Organismen ist sehr eingehend untersucht worden (siehe z. B. AMBERSON u. a. 1924, 1928, BOLEN 1937, CHEN 1932, GESSNER 1937, HALL 1931,

HAMON u. a. 1935, HELFF 1934, HYMAN 1932, KEMPNER 1936, MALOEUF 1936, TANG 1933, SCHLIEPER 1937). HARNISCH faßte 1935 die Ergebnisse dieser Arbeiten dahingehend zusammen, daß man wohl allgemein der Ansicht sei, „daß die Größe der oxybiontischen Energiegewinnung der Tiere vom O_2 -Partialdruck des Mediums prinzipiell unabhängig ist, solange genügende Versorgung auch der tiefsten Gewebsschichten mit dem Gas möglich ist, d. h. solange in den Geweben positiver O_2 -Druck herrscht“. Es kommt also auf das Gleichgewicht der beiden bestimmenden Faktoren, Größe der O_2 -Zufuhr zu den Zellen und Größe der oxybiontischen Prozesse in diesen Zellen, d. h. wohl im wesentlichen darauf an, ob durch die O_2 -Zufuhr („äußere Atmung“) eine ausreichende Menge von O_2 für den unter sonst gleichen Bedingungen eine bestimmte, vom O_2 -Druck unabhängige Größe besitzenden O_2 -Bedarf der atmenden Zellen („innere Atmung“) herangeschafft werden kann (s. dagegen GERARD 1931).

Ist dies nicht möglich, so kommt es in entsprechendem Maße zu anoxydativer Energiegewinnung (s. oben). Die dabei entstehenden Stoffwechselprodukte können nachträglich bei wieder genügender O_2 -Zufuhr durch Oxydation unschädlich gemacht werden [Erholungsatmung, sekundäre Oxybiose (HARNISCH 1937c)]. Die während der Notanaerobiose eigentlich benötigte O_2 -Menge wird so nachträglich noch aufgenommen, die eingegangene „ O_2 -Schuld“ wird „abbezahlt“.

Die Größe der O_2 -Zufuhr wird außer von den O_2 -Verhältnissen der Umwelt durch die Güte des gesamten Gasaustauschapparates und die gute Entwicklung eines Verteilungsapparates, der den O_2 von den respiratorischen Oberflächen zu den einzelnen Zellen hinbringt, bedingt sein. Der „kritische Wert“, bei dem infolge einer nicht mehr ausreichenden O_2 -Zufuhr eine Abnahme des O_2 -Verbrauches bei weiterer Erniedrigung des O_2 -Druckes auftritt, wird daher entsprechend der verschiedenen Organisation dieser Apparate weitgehend verschieden sein (KROGH 1916). — Da die bei O_2 -Mangel auftretenden Atmungsregulationen, die der Aufrechterhaltung der nötigen O_2 -Zufuhr dienen, erst nach einer gewissen Zeit ihre volle Höhe erreichen, wird verständlich, daß der „kritische Wert“ bei *allmählichem* Absinken des O_2 -Druckes beträchtlich tiefer liegen kann als bei plötzlicher Erniedrigung (LUND 1921, HYMAN 1929, GUTSELL 1929, HIESTAND 1931, CHEVILLARD u. a. 1937 usw.). — Bei einem zu geringen O_2 -Druck in der Umgebung wird auch bei bester Organisation nicht mehr genügend O_2 zu den Zellen kommen können, da vom O_2 immer eine gewisse Strecke auf dem Diffusionswege in einem wäßrigen Medium zurückgelegt werden muß. Die Unabhängigkeit vom O_2 -Druck kann daher im besten Falle nur eine weitgehende, keine absolute sein.

Kleine einzellige Organismen zeigen deshalb, wenn für eine genügend gleichmäßige O_2 -Konzentration in der Umgebung gesorgt wird, die größte Unabhängigkeit (WARBURG und KUBOWITZ 1929). Vielzeller müssen zur

Wahrung der Unabhängigkeit besondere Atmungsorgane ausbilden. Wird bei ihnen ein mehr oder weniger großer Teil dieser O_2 -Versorgungsmöglichkeiten ausgeschaltet, wie z. B. bei den luft- und wasseratmenden Salamandern (*Triturus pyrrhogaster*) oder Axolotl die Luftatmung (MALOEUF 1937a, b) oder bei der Eintagsfliege *Cloëon dipt.* die Kiemenplatten (WINGFIELD 1937), so wird der O_2 -Verbrauch dieser Tiere weitgehend vom O_2 -Druck abhängig. Durch Entwicklung von spezifischen O_2 -Überträgern (Blutfarbstoffen) kann die Unabhängigkeit infolge der verbesserten O_2 -Ausnutzbarkeit (s. oben) auf das 10fache gesteigert werden; dieselbe Wirkung wird z. B. auch durch die Ausbildung eines Tracheensystemes bei den Insekten hervorgerufen (MALOEUF 1937a, b).

Bei niederen und gleichzeitig massigen Evertebraten mit wenig gut ausgebildetem Zirkulationssystem, bei denen die Diffusionsstrecke für den O_2 zwischen atmender Zelle und dem Ort der O_2 -Aufnahme bzw. dem nächsten, den O_2 heranbringenden Gefäß sehr lang ist und daher, jedenfalls im Inneren der Tiere, der O_2 -Druck der Gewebe gleich 0 ist, bestimmt dagegen der O_2 -Druck weitgehend die Größe des O_2 -Verbrauches (z. B. bei Schnecken, Actinien, Echinodermen, *Sipunculus*). Wird diese Diffusionsstrecke verkürzt, z. B. durch entsprechend feines Zerschneiden der Tiere (HARNISCH 1932b, MEYER 1935b), dann verschwindet diese Abhängigkeit oder wird jedenfalls stark verringert. So ist auch zu verstehen, daß der O_2 -Verbrauch der viel dünneren Tentakel von *Anemonia sulcata* bei in Luft gesättigtem Wasser pro Gewichtseinheit etwa 4mal höher ist als der des ganzen Tieres (KRAMER 1937). — Daher steigt auch die Atmung des Seesternes nach Überführung in Wasser mit höherem O_2 -Druck zuerst an¹, um nach geringem Absinken konstant zu bleiben; durch weitere Erhöhung des O_2 -Druckes kann dann eine weitere Steigerung des O_2 -Verbrauches nicht mehr verursacht werden, weil der O_2 -Druck in den Geweben positiv geworden ist.

Kommt es andererseits zu einer Steigerung des O_2 -Verbrauches der Zellen, z. B. durch Erhöhung der Umgebungstemperatur, so kann dann unter Umständen ebenfalls die O_2 -Zufuhr nicht mehr ausreichen. Die weitgehendere Unabhängigkeit des O_2 -Verbrauches vom O_2 -Druck bei niedrigeren Temperaturen wird so verständlich (LINDEMANN 1935a, b, MALOEUF 1937a, b usw.).

In neueren Untersuchungen konnte gezeigt werden, daß die Verhältnisse jedoch zum Teil komplizierter liegen und auch die „innere Atmung“ bei manchen Tieren und unter gewissen Bedingungen vom O_2 -Druck abhängig sein kann. So hängt z. B. die Höhe des „kritischen Wertes“ auch noch von den O_2 -Verhältnissen ab, unter denen das Tier vorher gelebt hat. Der O_2 -Verbrauch von Organismen, die vorher mit genügend O_2 oxybiontisch gelebt haben (*Tubificiden*, *Planaria*, *Chironomus*-Larven), war weitgehend vom O_2 -Druck unabhängig, nicht jedoch der O_2 -Verbrauch von Tieren, die vorher eine „ O_2 -Schuld“ eingegangen waren (LINDEMANN 1935, HARNISCH 1935/36). Dieser Einfluß der Stoffwechselforgeschichte erklärt wohl weitgehend die sich auf diesem Gebiet zum

¹ v. BUDDENBROCK (1938) konnte zeigen, daß besonders bei der kurzfristigen Mehraufnahme von O_2 nach dem Einsetzen eines Tieres in sehr O_2 -reiches Wasser, wie es schon früher z. B. bei verschiedenen Fischen (RAFFY 1931, LEINER 1937), beim Seestern (MEYER 1935) beobachtet wurde, das vermehrte, rein physikalisch durch die Erhöhung des Diffusionsgefälles bedingte Hineindiffundieren von O_2 in den Organismus berücksichtigt werden muß.

Teil widersprechenden Versuchsergebnisse verschiedener Autoren, die diesen Punkt¹ unberücksichtigt ließen (so z. B. HYMAN 1929; BUCHANAN 1931; THOMAS 1937; DAUSEND 1931 und HARNISCH 1932b; DOLK u. a. 1929 und THUNBERG 1905, KONOPACKI 1907).

HARNISCH (1932/35) hatte nun schon vorher feststellen können, daß der O₂-Verbrauch mancher, normalerweise in O₂-losen Biotopen lebender Tiere, nämlich der Endoparasiten (*Fasciola hepatica*, *Ascaris* usw.), auch noch nach feinsten Zerkleinerung, d. h. also die „innere Atmung“, vom O₂-Druck der Umgebung abhängig bleibt. Nach HARNISCH dient der O₂-Verbrauch dieser Organismen, ebenso wie die eben erwähnte Erholungsatmung, nur der oxydativen Veränderung oder Beseitigung von Produkten eines anoxydativen Stoffwechsels, der bei diesen Parasiten auch bei Vorhandensein von O₂ mehr oder weniger dauernd weiter abläuft (s. oben). Der O₂-Mehrverbrauch nach vorangegangener Anaerobiose und der O₂-Verbrauch dieser Endoparasiten ist nun in seiner Größe vom O₂-Druck abhängig. Es liegt nach HARNISCH (1935 a) die Annahme nahe, daß es sich dabei um dieselben oder jedenfalls verwandte Prozesse handelt; sie werden als „sekundäre Oxybiose“ der „primären Oxybiose“ normal aerob lebender Organismen gegenübergestellt. — In dem besonderen Fall der Anpassung der Hb-besitzenden *Tanytarsus*- und *Chironomus*-Larven an einen verschiedenen O₂-Gehalt der Umgebung soll es sich nach den neueren Untersuchungen von HARNISCH (1937 d) weniger darum handeln, daß bei *Tanytarsus* anoxybiontische Prozesse in geringerem Maße für oxybiontische eintreten können als bei *Chironomus* (s. oben), sondern darum, daß die Leistungsfähigkeit der Erholungsatmung nach einer erzwungenen Anaerobiose bei *Chironomus* eine größere zu sein scheint. Eine ähnliche Erklärung wurde von HARNISCH (1939) auch für das unterschiedliche Verhalten von *Chloeon*- und *Ephemera*-Larven gegenüber einem O₂-Mangel gefunden.

Von HARNISCH konnte schließlich noch bei *Chironomus*-Larven nachgewiesen werden, daß nach Entfernung der Leibeshöhlenflüssigkeit die Gewebe keine Merkmale der „sekundären Oxybiose“ mehr zeigen: keine Erholungsatmung und keine Abhängigkeit des O₂-Verbrauches vom O₂-Druck nach vorangegangener Anaerobiose. Die sekundäre Oxybiose wird also durch ein zellfrei arbeitendes Oxydans geleitet, was ihre prinzipielle Abhängigkeit vom O₂-Partialdruck verständlich macht. Auch in der Leibeshöhlenflüssigkeit bzw. Gewebsextrakten von *Ascaris* und einigen *Cestoden* konnte ein ähnliches Oxydans nachgewiesen werden. Da zerkleinertes, gewaschenes Gewebe dieser Organismen ohne diese Substanz gewöhnlich keinen O₂-Verbrauch mehr hat, wird angenommen, daß möglicherweise die gesamte oder jedenfalls ein erheblicher Teil der Oxybiose dieser Tiere von diesem Oxydans geleitet wird. Dieser Anschauung, daß die Oxybiose dieser Parasiten grundsätzlich anders verläuft als die normalen Oxydationsprozesse der aerob lebenden Organismen und höchstens mit der Erholungsatmung dieser Tiere nach Anaerobiose zu vergleichen ist, und die von HARNISCH selbst nur als Arbeitshypothese bezeichnet wird, ist von KRÜGER (1936) widersprochen worden.

¹ Ebenso wie die Abhängigkeit des „kritischen Wertes“ von der Temperatur und von der Geschwindigkeit der Erniedrigung des O₂-Gehaltes (s. oben).

Es ist noch der Versuch gemacht worden, das bei manchen naheverwandten Tieren sehr unterschiedliche Verhalten der Abhängigkeit des O_2 -Verbrauches vom O_2 -Druck, z. B. bei einigen *Ephemeren*- und *Chironomus*-Larven, mit den O_2 -Verhältnissen der Biotope dieser Tiere in Zusammenhang zu bringen. Eine eindeutige Beziehung konnte jedoch nicht gefunden werden (FOX u. a. 1936/37, HARNISCH 1937d). Da der „kritische Wert“ außerdem bei ein und derselben Tierart nicht unwesentlichen Schwankungen unterworfen war, kommt ihm nach HARNISCH keine besondere ökologische Bedeutung zu. Neuerdings konnte dann HARNISCH (1939) noch zeigen, daß von diesen Ephemerenlarven *Chloeon dipterum*, die in ziemlich O_2 -reicher Umgebung lebt, sehr empfindlich gegen O_2 -Entzug ist und zu einer sekundären Oxybiose (Erholungsatmung, mit ihrer vom O_2 -Druck abhängigen Größe des O_2 -Verbrauches) nicht befähigt ist. Die im Schlamm lebende *Ephemera vulgaris* ist im Gegensatz dazu mehr auf eine anaerobe Energiegewinnung eingestellt; die normalerweise bei ihr zu beobachtende Abhängigkeit des O_2 -Verbrauches vom O_2 -Druck ist auf das regelmäßige Vorhandensein sekundär-oxybiontischer Prozesse zurückzuführen.

Schluß.

Zum Schluß möchte ich noch kurz einige Beispiele für die Gebundenheit einiger Wasserorganismen an Biotope mit ganz bestimmtem O_2 -Gehalt anführen, die in der Praxis sogar zur Charakterisierung der O_2 -Verhältnisse von Gewässern benutzt werden. Von THIENEMANN (1909/31) wurden zuerst die Beziehungen zwischen dem O_2 -Gehalt und dem Vorkommen der verschiedensten Organismen in den Seen eingehend untersucht. Diese Verknüpfung war so eng, daß er zur Kennzeichnung der O_2 -Verhältnisse die Seen nach den in ihnen besonders reichlich vorkommenden Organismen einteilen konnte und so „*Tanytarsus*-, *Chironomus*-, *Corethra*-Seen usw.“ unterschied. Es war sogar möglich, aus der Zusammensetzung der in einem See gefundenen Tiefenfauna nicht nur einen Rückschluß auf die gerade herrschenden O_2 -Verhältnisse, sondern auch auf die jahreszeitlichen Veränderungen des O_2 -Gehaltes des Tiefenwassers zu machen. Da die O_2 -Verhältnisse wiederum für die Nahrungsverhältnisse usw. des Sees kennzeichnend sind (s. oben), genügt so zur Charakterisierung des ganzen Sees die Bestimmung der Tiefenfauna.

Es sollen hier nur einige der Hauptbeispiele für die Möglichkeit der Kennzeichnung der verschiedenen Seentypen durch bestimmte Leitformen der größeren Bodenfauna gegeben werden. Eine Zusammenfassung anderer, noch beträchtlich weiter gehender Untergliederungen (von ALM, KALLE, LUNDBECK, DECKSBACH usw.) findet sich bei NAUMANN (1932). Es ist jedoch fraglich, ob bei diesen weiteren Untergliederungen immer noch Unterschiede des O_2 -Gehaltes maßgebend sind. Dies gilt hauptsächlich für Unterabteilungen oligotropher Seen; der gliedernde Einfluß des O_2 fällt hier fort, da der O_2 -Gehalt in der Nähe des Maximalwertes liegt, wo kleine Änderungen in der Regel keinen Einfluß mehr haben (LENZ 1925); wahrscheinlich spielen andere Faktoren oder deren Kombination hier eine wichtigere Rolle.

„*Tanytarsus*-Seen“ sind oligotrophe Seen (s. oben), bei denen der O_2 -Gehalt auch während der Stagnationsperioden nicht unter 50—60% der Sättigung absinkt. In der Seentiefe findet sich daher regelmäßig eine O_2 -bedürftige Organismengemeinschaft, in der durch zahlreiches Vorkommen besonders die *Tanytarsus*-Gruppe der *Chironomiden*-Larven auffällt (meist *Lauterbornia coracina*).

Hierher gehören ferner die *Chironomiden*larven *Monodiamesa bathyphila*, die etwas widerstandsfähiger gegen O_2 -Armut zu sein scheint, *Didiamesa miriforceps* und *Sergentia profundorum* (LENZ 1925), *Tubifex velutinus* und *barbatus*, der Nematode *Ironus ignavus* (SCHNEIDER 1922) und von Fischen besonders die Coregonen. In norddeutschen Seen kommen die sogenannten Reliktenkrebse nur in diesen „*Tanytarsus*-Seen“ vor, wo in der Tiefe eine entsprechend niedrige Temperatur bei gleichzeitig hohem O_2 -Gehalt herrscht: so zeigt *Mysis relicta* eine Massenentwicklung nur bei einem O_2 -Gehalt von mehr als 5 ccm pro Liter, die noch O_2 -bedürftigere *Pontoporeia affinis* hält nur einen O_2 -Gehalt von mindestens 4,5 ccm pro Liter aus, das Existenzoptimum von *Pallasea quadrispinosa* liegt bei einem O_2 -Gehalt von mehr als 3,5 ccm pro Liter (THIENEMANN 1926/28).

Bei weiterer „Eutrophierung“ der Seen (s. oben) ändert sich gleichzeitig mit dem O_2 -Gehalt die Lebewelt in der Tiefe, die *Tanytarsus*-Form *Lauterbornia* verschwindet allmählich, dafür treten andere *Chironomus*-Larven (*Chir. Liebeli-batophilus*, *plumosus*) und schließlich *Corethra plumicornis* („*Corethra*-See“) auf, wenn der O_2 -Gehalt in der Tiefe im Sommer und auch im Winter besonders niedrig geworden ist.

Charakteristisch für die „*Chironomus*-Seen“ sind außerdem *Tubifex*, *Trichotanypus*, *Trilobus gracilis* (Nematode). Wahrscheinlich sind auch Unterschiede der Oligochätenfauna in Abhängigkeit vom O_2 -Gehalt vorhanden. Während in den oligotropen Seen der begrenzende oder „Minimum“-Faktor die Nahrung darstellt, ist es in den eutrophen Seen der O_2 . — Das O_2 -Minimum für diese Tiefenformen beträgt nach LUNDBECK (1926): *Tanytarsus* (*Lauterbornia*) 4 ccm pro Liter, *Tubifex barbatus* etwas weniger, *Pisidium* 3 ccm pro Liter, *Tanypus* etwas weniger, *Chir. batophilus* 2 ccm pro Liter, *Tubifex tubifex*, *Chir. plumosus* etwa 1 ccm pro Liter, *Corethra* fast 0 ccm pro Liter.

Auch die durch ihren verschiedenen O_2 -Gehalt gekennzeichneten Regionen fließender Gewässer (s. oben) werden nach den dort vorkommenden charakteristischen Fischarten genannt (siehe z. B. THIENEMANN 1931, WUNDER 1936). So unterscheidet man entsprechend dem abnehmenden O_2 -Gehalt vom Bergbach bis zur Flußmündung: eine Region der Bachforelle (*Trutta fario*), in der bei einem O_2 -Gehalt von 7—11 ccm pro Liter an Fischen außerdem noch *Cottus gobio* und *poecilicopus*, *Phoxinus laevis* und *Nemachilus barbatula* vorkommen; eine Region der Aesche (*Thymallus vulgaris*) mit *Chondrostoma nasus*, *Squalius cephalus*, *Lota vulgaris*, *Gobio fluviatilis* und *Alburnus lucidus*; eine Region der Barbe mit *Leuciscus leuciscus* und *rutilus*, *Perca fluviatilis*, *Acerina cernua*, *Esox lucius* und *Lucioperca sandra* und schließlich eine Region der Blei (*Abramis brama*), in der Fischarten mit besonders geringem O_2 -Bedürfnis vorkommen, wie *Blicca*

byörkna, *Rhodeus amarus*, *Idus melanotus*, *Silurus glanis*, *Carassius vulgaris* und *Cyprinus carpio*.

In diesem Zusammenhange ist ferner noch zu erwähnen, daß WUNDER (1932) auf Grund seiner Untersuchungen zu dem Schluß kam, daß das im Darm der verschiedenen Fische oft zu beobachtende Vorkommen ein und derselben Planktonart in großen Mengen, bei einem Vorkommen sehr vieler verschiedener Planktonarten in einem Gewässer, nur so zu erklären ist, daß die betreffenden Fische und Planktonorganismen dem gleichen Biotop angehören, d. h. auf dieselben Umweltreize eingestellt sind. Sowohl die einzelnen Fischarten, wie auch die verschiedenen Planktonorganismen halten sich entsprechend ihrer Anpassung in ganz bestimmten, durch verschiedene Faktoren gekennzeichneten Wassergegenden auf. Und unter diesen Umweltfaktoren spielt der O_2 -Gehalt sicherlich eine große Rolle.

Gerade dieses letzte Beispiel zeigt das, worauf wir zum Schluß noch besonders hinweisen wollen. Eine sehr große Anzahl von Einzelfaktoren bestimmen das Milieu des Lebensraumes, die Änderung vieler dieser Faktoren wird von den Organismen wahrgenommen und durch bestimmte Reaktionen beantwortet; viele Faktoren können, wenn sie sich von dem für einen Organismus bestimmten Optimalwert entfernen, die Entwicklungsmöglichkeit und das Leben des betreffenden Organismus beeinflussen, und zwar um so stärker, je mehr sie sich dem Minimal-Zulässigen oder Maximal-Erträglichen nähern (GROTE 1934). Nur *einer* von ihnen, wenn auch wohl sicherlich einer der wichtigsten, ist der O_2 . Nur *seinen* Einfluß auf die Organismen haben wir darzustellen versucht. Dabei ist noch zu beachten, daß nur in wenigen Fällen eine alleinige Änderung dieses Milieufaktors in der Natur stattfindet, und daß es auch unter experimentellen Bedingungen oft nicht leicht ist, die beobachtete Reaktion eines Organismus eindeutig auf Veränderungen des O_2 -Gehaltes zurückzuführen. So mag dies wohl der Grund dafür sein, daß unsere exakten Kenntnisse auf diesem Gebiet noch verhältnismäßig gering sind.

Je besser wir jedoch die Organisation und das Verhalten der einzelnen Organismen kennen werden, desto mehr wird uns, besonders auch bei Betrachtung der Gesamtheit aller Umweltfaktoren, das Wunder der vollkommenen und harmonischen Einpassung der Organismen in die zu ihnen gehörende Umwelt verständlich werden.

Literatur.

- ABOLIN, L.: Über den Einfluß der maximalen Darmatmung auf den histologischen Bau des Enddarmes des Schlammpeitzgers. Biol. Zbl. **44**, 433 (1924).
— Influence de la respiration intestinale forcée sur la paroi du rectum chez les loches. C. r. Soc. Biol. Paris **93**, 806 (1925).
ACHARD, CH., L. BINET et A. LEBLANC: Recherches sur les effets biologiques des milieux suroxygénés. J. Physiol. et Path. gén. **25**, 489 (1927).

- ADAM, W.: Über die Stoffwechselfprozesse von *Ascaris suilla*. Z. vergl. Physiol. **16**, 229 (1932).
- ALLEE, W. C. and R. OESTING: A critical examination of WINKLER'S method for determining dissolved O_2 in respiration studies with aquatic animals. Physiologic. Zool. **7**, 509 (1934).
- ALSTERBERG, G.: Die respiratorischen Mechanismen der Tubificiden. Lunds Univ. Arsskrift (N. F. Avd. 2) **18**, 1 (1922).
- Die Sinnesphysiologie der Tubificiden. Arch. f. Hydrobiol. **14**, 578 (1923).
- Die Sinnesphysiologie der Tubificiden. Lunds Univ. Arsskrift (N. F. Avd. 2) **20**, Nr 7 (1924).
- Beiträge zur Kenntnis der Anatomie und Biologie der limnophilen Syrphidenlarven. Biol. Zbl. **54**, 1 (1934).
- ALT, H. L. and O. H. TISCHER: Observation on the metabolism of the tape-worm, *Moniezia expansa*. Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. **29**, 222 (1931).
- AMBERSON, W. R.: The influence of O_2 -tension upon the respiration of unicellular organisms. Biol. Bull. Mar. biol. Labor. Wood's Hole **55**, 79 (1928).
- H. S. MAYERSON and W. J. SCOTT: The influence of O_2 -tension upon metabolic rate in invertebrates. J. gen. Physiol. **7**, 171 (1924).
- BABÁK, E.: Über die funktionelle Anpassung der äußeren Kiemen bei O_2 -Mangel. Zbl. Physiol. **21**, 7 (1907).
- Untersuchungen über die Atemzentrentätigkeit bei den Insekten. I. Pflügers Arch. **147**, 349 (1912).
- u. O. FOUSTKA: Untersuchungen über den Auslösungsreiz der Atembewegungen bei den Libellulidenlarven. Pflügers Arch. **119**, 530 (1907).
- u. J. HEPNER: Über die Atembewegungen und ihre Regulation bei den Panzerechsen. Pflügers Arch. **156**, 572 (1914).
- BADER, R.: Bau, Entwicklung und Funktion des akzessorischen Atmungsorganes der Labyrinthfische. Z. Zool. **149**, 323 (1937).
- BAGLIONI, S.: Über das O_2 -Bedürfnis des Zentralnervensystems bei Seetieren. Z. allg. Physiol. **5**, 415 (1905).
- BARCROFT, J.: The physiology of life in the Andes. Nature (Lond.) **1922**.
- The conditions of foetal respiration. Lancet **1933**, 1021.
- Features in the architecture of physiological function. Cambridge 1934.
- Respiratory and vascular changes in mammals before and after birth. Lancet **1935a**, 647.
- Foetal respiration. Proc. roy. Soc. Lond. B **118**, 242 (1935b).
- Foetal circulation and respiration. Physiologic. Rev. **16**, 103 (1936).
- and H. BARCROFT: The blood pigment of *Arenicola*. Proc. roy. Soc. Lond. B **96**, 28 (1924).
- E. ELLIOTT u. a.: Conditions of foetal respiration in the goat. J. of Physiol. **83**, 192 (1934).
- and W. KING: The effect of temperature on the dissociation curve of blood. J. of Physiol. **39**, 374 (1909).
- BARNES, T. C.: Experiments on *Ligia* in Bermuda. V. Biol. Bull. Mar. biol. Labor. Wood's Hole **74**, 108 (1938).
- BARTH, L. G.: O_2 as a controlling factor in the regeneration of *Tubularia*. Physiologic. Zool. **11**, 179 (1938).
- BASTERT, CHR.: Über die Regulierung des O_2 -Verbrauches aus der Lunge der Frösche im Hinblick auf ihr Tauchvermögen. Z. vergl. Physiol. **9**, 212 (1929).
- BAUNACKE, W.: Statische Sinnesorgane bei den Nepiden. Zool. Jb., Anat. u. Ontog. **34**, 179 (1912).
- Studien zur Frage nach der Statocystenfunktion. Biol. Zbl. **33**, 427 (1913).

- BEADLE, L. C.: The effect of salinity changes on the water content and respiration of marine invertebrates. *J. of exper. Biol.* **8**, 211 (1931).
- Adaptation to aerial respiration in *Alma emini* MICH., an oligochaet from East African swamps. *J. Linnean Soc. Zool.* **38**, 347 (1933a).
- Pelvic filaments of *Lepidosiren*. *Nature (Lond.)* **1933b**, 243.
- Osmotic regulation in *Gunda ulvae*. *J. of exper. Biol.* **11**, 382 (1934).
- BENECKE, W. u. L. JOST: Pflanzenphysiologie. Jena 1923.
- BENZINGER, TH.: Der Höhenflieger im Schutz der natürlichen Höhenanpassung. *Luftfahrtmed.* **2**, 167 (1938).
- E. OPITZ u. W. SCHOEDEL: Atmungsanregung durch O₂-Mangel. *Pflügers Arch.* **241**, 71 (1938).
- BERGMANN, H. F.: The relation of aeration to the growth and activity of roots. *Ann. Bot.* **34**, 13 (1920).
- BERT, P.: La pression barométrique. Paris 1878.
- BETHE, A.: Atmung. Handbuch der normalen und pathologischen Physiologie, Bd. II. 1925.
- BEUTLER, R.: Beobachtungen an gefütterten Hydroidpolypen. *Z. vergl. Physiol.* **3**, 743 (1926).
- Über Sauerstoffempfindlichkeit bei *Hydra*. *Z. vergl. Physiol.* **18**, 718 (1933).
- BINET et WILLIAMSON: *C. r. Soc. Biol. Paris* **95**, 262, 1141 (1926).
- BIRGE, A. and CH. JUDAY: The inland lakes of Wisconsin. The dissolved gases of the water and their biological significance. *Wisconsin Geolog. and Nature Hist. Surv. Bull.* **22**, 1 (1911).
- A limnological study of the finger lakes of New York. *Bull. Bur. Fish.* **32**, Nr 791 (1914).
- BLACK, C. and L. IRVING: The effect of CO₂ upon the O₂-capacity of the blood of some fresh water fishes. *Biol. Bull. Mar. biol. Labor. Wood's Hole* **73**, 356 (1937).
- BÖKER, H.: Über einige neue Organe bei Luft atmenden Fischen und im Uterus der *Anakonda*. *Anat. Anz.* **76**, 148 (1933).
- BOHR, CHR., K. HASSELBACH u. A. KROGH: Über einen in biologischer Beziehung wichtigen Einfluß, den die CO₂-Spannung des Blutes auf dessen O₂-Bindung ausübt. *Skand. Arch. Physiol. (Berl. u. Lpz.)* **16**, 402 (1904).
- BOLEN, B.: Specific dynamic action in *Planaria*. *J. of exper. Zool.* **75**, 389 (1937).
- BORDEN, A.: A study of the respiration and of the function of haemoglobin in *Planorbis corneus* and *Arenicola marina*. *J. Mar. biol. Assoc. U. Kingd. N. s.* **17**, 709 (1931).
- BOTH, P.: Die Regulation des Luftschöpfens bei *Notonecta glauca*. *Z. vergl. Physiol.* **21**, 167 (1934).
- BOTJES, O.: Die Atemregulierung bei *Corixa Geoff. L.* *Z. vergl. Physiol.* **17**, 557 (1932).
- BOUNHIOL, J.-P.: Sur la respiration en milieux suroxygénés. *C. r. Acad. Sci. Paris* **188**, 1340 (1929).
- BOUNHIOL, M. J.: Recherches biologiques expérimentales sur la respiration des annélides polychètes. *Ann. Sci. nat. zool. paléont.* **16** (1902).
- BRAND, TH. FRHR. v.: Der Stoffwechsel von *Ascaris lumbricoides* bei Oxybiose und Anoxybiose. *Z. vergl. Physiol.* **21**, 220 (1934a).
- Das Leben ohne O₂ bei wirbellosen Tieren. *Erg. Biol.* **10**, 37 (1934b).
- u. O. HARNISCH: Die Einteilung der Tiere nach der Eigenart ihres Betriebsstoffwechsels. *Zool. Anz.* **104**, 334 (1933).
- u. W. WEISE: Beobachtungen über den O₂-Gehalt der Umwelt einiger Entoparasiten. *Z. vergl. Physiol.* **18**, 339 (1933).

- BRAUN, FR.: Beiträge zur Biologie und Atmungsphysiologie der *Argyroneta aquatica*. Zool. Jb., System. Ökol. **62**, 175 (1931).
- BREHM, V. u. F. RUTTNER: Die Biocönosen der Lunzer Gewässer. Internat. Rev. d. Hydrobiol. **16**, 281 (1926).
- BROCHER, FR.: Le mechanism de la respiration et celui de la circulation du sang chez les insectes. Archives de Zool. **74**, 25 (1931).
- BRÖNSTEDT, N. u. C. WESENBERG-LUND: Chemisch-physikalische Untersuchungen der dänischen Gewässer. Internat. Rev. d. Hydrobiol. **4** (1911/12).
- BRUES, T.: Animal life in hot springs. Quart. Rev. Biol. **2**, 181 (1927).
- BRUJEWICZ, S. W.: Tägliche Schwankungen der hydrochemischen Faktoren im Flußwasser. Verh. internat. Ver. theor. angew. Limnologie **5**, 442 (1931).
- BUCHANAN, J. W.: Modification of the rate of O₂-consumption by changes in O₂-concentration in solutions of different osmotic pressure. Biol. Bull. Mar. biol. Labor. Wood's Hole **60**, 309 (1931).
- BUDDENBROCK, W. V.: Studien über die Atmung der Insekten, insbesondere der Stabheuschrecke *Dixippus morosus*. Berl. klin. Wschr. **1921**, 1003.
- Grundriß der vergleichenden Physiologie. Berlin: Gebrüder Bornträger 1924.
- Einige Bemerkungen über die O₂-Sättigungskurve des Blutes verschiedener Tiere. Naturwiss. **22**, 41 (1934).
- Über die Abhängigkeit der Atmung vom Sauerstoffdruck. Nova Acta Leopoldina, N. F. **6**, 1 (1938).
- u. G. v. ROHR: Die Atmung von *Dixippus morosus*. Z. allg. Physiol. **20**, 111 (1922).
- CAMPBELL, J. A.: Further observations on O₂-acclimatisation. J. of Physiol. **63**, 325 (1927).
- J. of Physiol. **68**, 7 (1930).
- Body temperature and O₂-poisoning. J. of Physiol. **89**, 17 P (1937a).
- O₂-poisoning and the thyreoid gland. J. of Physiol. **90**, 91 P (1937b).
- CARTER, G. S.: Aquatic and aerial respiration in animals. Biol. Rev. Cambridge philos. Soc. **6**, 1 (1931).
- Respiratory adaptations of the fishes of the forest waters etc. J. Linnean Soc. Zool. **39**, 219 (1935).
- and L. C. BEADLE: The fauna of the swamps of the Paraguayan Chaco in relation to its environment. I. J. Linnean Soc. Zool. **37**, 205 (1931a).
- — The fauna of the swamps of the Paraguayan Chaco in relation to its environment. II. J. Linnean Soc. Zool. **37**, 327 (1931b).
- — The fauna of the swamps of the Paraguayan Chaco in relation to its environment. III. J. Linnean Soc. Zool. **37**, 379 (1931c).
- CHEN, T. Y.: The effect of O₂-tension on the O₂-consumption of the Chinese fresh water crab, *Eriocheir sinensis*. Chin. J. Physiol. **6**, 1 (1932).
- CHEVEY, L. ROULE et VERRIER: Sur l'interruption de la montée des saumons par la diminution de la teneur du cours d'eau en O₂ dissous. C. r. Acad. Sci. Paris **185**, 1527 (1927).
- CHEVILLARD, L., F. HAMON et A. MAYER: Influence de la tension d'O₂ sur la consommation d'O₂ de la souris blanche adulte. Ann. de Physiol. **13**, 1145 (1937).
- CLAUS, A.: Vergleichend physiologische Untersuchungen zur Ökologie der Wasserwanzen, mit besonderer Berücksichtigung der Brackwasserwanze *Sigara lugubris*. Zool. Jb., Allg. Zool. u. Physiol. **58**, 365 (1937).
- CLAUSEN, R. G.: O₂-consumption in fresh water fishes. Ecology **17**, 216 (1936).

- CLEVELAND, L. R.: Toxicity of O₂ for protozoa in vivo and in vitro: animals defaunated without injury. Biol. Bull. Mar. biol. Labor. Wood's Hole **48**, 455 (1925).
- COLE, A. E.: O₂ supply of certain animals living in water containing no dissolved O₂. J. of exper. Zool. **33**, 293 (1921).
- COLOSI, G.: Über die Konstanz des respiratorischen Mediums. Zool. Anz. **77**, 106 (1928).
- Respirazione ed evoluzione. Arch. Zool. ital. **16**, 228 (1931).
- COMROE, J. H. and C. S. SCHMIDT: The part played by reflexes from the carotid body in the chemical regulation of respiration in the dog. Amer. J. Physiol. **121**, 75 (1938).
- COOK, S. F.: The respiratory gas exchange in *Termopsis nevadensis*. Biol. Bull. Mar. biol. Labor. Wood's Hole **63**, 246 (1932).
- CROZIER, J. and E. B. STIER: Critical increment for opercular breathing rhythm of the gold fish. J. gen. Physiol. **7**, 699 (1925).
- CUÉNOT, L.: L'adaptation. Paris 1925.
- CUNNINGHAM, J. T. and D. M. REID: Experimental researches on the emission of O₂ by the pelvic filaments of the male *Lepidosiren* etc. Proc. roy. Soc. Lond. B **110**, 234 (1932).
- Pelvic filaments of *Lepidosiren*. Nature (Lond.) **1933**, 913.
- DAHR, E.: Atembewegungen der Landpulmonaten. Lunds Univ. Arsskrift (N. F. Avd. 2) **20** (1924).
- DAM, L. VAN: On the utilisation of O₂ by *Mya arenaria*. J. of exper. Biol. **12**, 86 (1935).
- Über die Atembewegungen und das Atemvolumen von *Phryganea*-Larven, *Arenicola marina*, *Nereis virens* usw. Zool. Anz. **118**, 122 (1937).
- On the utilisation of O₂ and regulation of breathing in some aquatic animals. Diss. Groningen 1938.
- DAS, B. K.: The bionomic of certain air breathing fishes of India etc. Philos. Trans. roy. Soc. Lond. B **216** 183 (1927).
- On the bionomics, structure and physiology of respiration in an estuarine air breathing fish, *Pseudapocryptes lanceolatus*. Current Sci. **1**, 389 (1933).
- The habits and structure of *Pseudapocryptes lanceolatus* etc. Proc. roy. Soc. Lond. B **115**, 422 (1934).
- On ecology and bionomics of an airbreathing loach, *Lepidocephalus guntea* etc. Verh. 12. internat. Kongr. Zool. **2**, 866 (1937).
- DAUSEND, K.: Über die Atmung der Tubificiden. Z. vergl. Physiol. **14**, 557 (1931).
- DAVEY, D. G.: Physiology of *Nematodes*. Nature (Lond.) **1937**, 645.
- The respiration of *Nematodes* of the alimentary tract. J. of exper. Biol. **15**, 217 (1938).
- DAVIS, G. and K. SLATER: The aerobic and anaerobic metabolism of the common cockroach (*Periplaneta or.*). I. Biochemic. J. **20** (1926).
- DAWSON, J.: The biology of *Physa*. Behav. Monogr. **1**, Nr 4 (1911).
- DECKSBACH, N. K.: Über verschiedene Typenfolgen der Seen. Arch. f. Hydrobiol. **20** (1929).
- DEJDAR, E. u. J. GICKLHORN: Neue Untersuchungen zum Nachweis der Funktion des Nackenschildes der Cladoceren als Atmungsorgan. Z. Morph. u. Ökol. Tiere **26**, 94 (1932).
- DEMOLL, R.: Untersuchungen über die Atmung der Insekten. Z. Biol. **86**, 45 (1927); **87**, 8 (1927).
- DEWITZ: Einige Beobachtungen betreffend das geschlossene Tracheensystem bei Insektenlarven. Zool. Anz. **13**, 500 (1890).

- DIJK, S. VAN: Über die Regelung der Labyrinthatmung bei jungen und erwachsenen Exemplaren von *Osphromenus gurami*. Z. vergl. Physiol. **26**, 328 (1938).
- DIJKSTRA, S. J.: Über Wesen und Ursache der Notatmung. Z. vergl. Physiol. **19**, 666 (1933).
- DODDS, G. S. and F. L. HISAW: Ecological studies of aquatic insects. II. Ecology **5**, 262 (1924).
- DOLK, H. E. u. F. VAN DER PAAUW: Die Leistungen des Hämoglobins beim Regenwurm. Z. vergl. Physiol. **10**, 323 (1929).
- u. N. POSTMA: Über die Haut- und die Lungenatmung von *Rana temporaria*. Z. vergl. Physiol. **5**, 417 (1927).
- DOMS: Arch. mikrosk. Anat. u. Entw.mechan. **87** (1915).
- DOTTERWEICH, H.: Versuche über den Weg der Atemluft in der Vogellunge. Z. vergl. Physiol. **11**, 271 (1930).
- DRASTICH, L.: Über das Leben der *Salamandra*-Larven bei hohem und niedrigem O₂-Partialdruck. Z. vergl. Physiol. **2**, 632 (1925).
- DURST, J.: O₂-Schwankungen der Atemluft in ihrer formbildenden Wirkung bei Mensch und Tier. Bern u. Leipzig: Paul Haupt 1937.
- EGE, R.: On the respiratory function of air stores carried by some aquatic insects. Z. allg. Physiol. **17**, 81 (1915).
- EPHRUSSI, B., L. CHEVILLARD, A. MAYER et L. PLANTEFOL: Recherches sur le besoin d'oxygène libre. II. Ann. de Physiol. **5**, 642 (1929).
- FAURÉ-FRÉMIT, E., C. LÉON, MAYER et PLANTEFOL: Recherches sur le besoin d'oxygène. I. Ann. de Physiol. **5**, 633 (1929).
- FEHLMANN, J. W.: Die Bedeutung des O₂ für die aquatile Fauna. Vjschr. naturforsch. Ges. Zürich **62**, 230 (1917).
- FINDENEGG, J.: Limnologische Untersuchungen im Kärntner Seengebiet. Internat. Rev. d. Hydrobiol. **32**, 369 (1935).
- Über den O₂-Gehalt tiefer Seen und seine indikatorische Bedeutung für ihren Trophiezustand. Arch. f. Hydrobiol. **30**, 337 (1936).
- FISCHER, P. H. et M. DUVAL: Note préliminaire sur les échanges respiratoires. Ann. de Physiol. **7**, 88 (1931).
- FLEISCH, A.: Der Mensch bei O₂-Mangel. Verh. Schweiz. naturforsch. Ges. **1932**, 250.
- FLORKIN, M.: Sur la fonction de l'hémérythrine. C. r. Soc. Biol. Paris **112**, 706 (1933a).
- Recherches sur les hémérythrines. Arch. int. Physiol. **36**, 247 (1933b).
- La fonction respiratoire du milieu intérieur dans la série animale. Ann. de Physiol. **10**, 599 (1934).
- Où en est la biochimie comparée. Ann. Soc. roy. Sci. méd. et natur. Brux. **1935**, 27.
- and A. C. REDFIELD: On the respiratory function of the blood of the sealion. Biol. Bull. Mar. biol. Labor. Wood's Hole **61**, 422 (1931).
- FONTAINE, M. et A. RAFFY: Sur le mécanisme des modifications de la consommation d'oxygène observés chez la civelle etc. C. r. Soc. Biol. Paris **110**, 538 (1932).
- FOX, M.: An investigation into cause of the spontaneous aggregation of flagellates etc. J. gen. Physiol. **3**, 483, 501, 565 (1921).
- The O₂-affinity of Chlorocruorin. Nature (Lond.) **130**, 92 (1932). — Proc. roy. Soc. Lond. B **111**, 356 (1932).
- The O₂ to iron ratio of oxychlorocruorin and the total quantity of O₂ carried by the pigment in *Spirographis*. Proc. roy. Soc. Lond. B **115**, 368 (1934).
- Functions of the tube in Sabellid Worms. Nature (Lond.) **141**, 163 (1938).

- FOX, M. and M. L. JOHNSON: Control of respiratory movements in *Crustacea*.
J. of exper. Biol. **11**, 1 (1934).
- and B. G. SIMMONDS: Metabolic rate and habitat. Nature (Lond.) **130**,
277 (1932).
- — Metabolic rates of aquatic Arthropods from different habitats. J. of
exper. Biol. **10**, 67 (1933).
- — and WASHBOURN: J. of exper. Biol. **12**, 179 (1935).
- C. A. WINGFIELD and G. SIMMONDS: O₂-consumption of mayfly nymphs
in relation to available O₂. Nature (Lond.) **1936**, 1015.
- — — The O₂-consumption of Ephemeroptera nymphs from flowing and from
still waters etc. J. of exper. Biol. **14**, 210 (1937).
- FOXON, H.: Pelvic fins of the *Lepidosiren*. Nature (Lond.) **131**, 732 (1933).
- FRAENKEL, G. and B. HERFORD: The respiration of insects through the skin.
J. of exper. Biol. **15**, 266 (1938).
- FRIEDHEIM, A. H.: Untersuchungen über die Atmung von *Diphyllbothrium*
latum. Biochem. Z. **265** (1933).
- On CO-resistant respiration. Arch. exper. Zellforsch. **15**, 27 (1934).
- GABBE, E.: Zirkulation und Utilisation des Blutes in der Peripherie. Verh.
dtsh. Ges. Kreislaufforsch. **1932**, 192, 267.
- GALTSOFF, P. S.: Seasonal migrations of mackerel in the black sea. Ecology **5**,
1 (1924).
- GARDENER, J. A. and G. KING: Respiratory exchange in fresh water fish.
IV. und V. Biochemic. J. **16**, 729, 736 (1922).
- GARTKIEWICZ, ST.: Sur la respiration de l'anadonte à l'état d'activité et de
repos. Arch. internat. Physiol. **20**, 202 (1922).
- GASCHOTT, O.: Beobachtungen und Versuche an *Triops cancrivormis*. Zool.
Anz. **75**, 267 (1928).
- GEITLER, L.: Über Vegetationsfärbungen in Bächen. Biol. generalis (Wien) **3**,
791 (1927).
- GÉRARD, R. W.: O₂-diffusion in cells. Biol. Bull. Mar. biol. Labor. Wood's Hole
60, 245 (1931).
- GESSNER, F.: Untersuchungen über Assimilation und Atmung submerser
Wasserpflanzen. Jb. Bot. **85**, 267 (1937).
- GÖTSCH, W.: Symbiose und Artproblem bei *Hydra*. Naturwiss. **10**, 867 (1922).
- Die Symbiose der Süßwasserhydrozoen und ihre künstliche Beeinflussung.
Z. Morph. u. Ökol. Tiere **1** (1924).
- u. L. SCHEURING: Parasitismus und Symbiose der Algengattung *Chlorella*.
Z. Morph. u. Ökol. Tiere **7**, 220 (1927).
- GOMPEL, M.: Recherches sur la consommation de O₂ de quelques animaux
aquatiques littoraux. C. r. Acad. Sci. Paris **205**, 816 (1937).
- GREEN, A. A. and A. REDFIELD: On the respiratory function of the blood
of the porpoise. Biol. Bull. Mar. biol. Labor. Wood's Hole **64**, 44 (1933).
- GROTE, A.: Der Sauerstoffhaushalt der Seen. Die Binnengewässer, Bd. 14.
Stuttgart 1934.
- GUTHRIE, C.: Respiration in fowls. Amer. J. Physiol. **76**, 204 (1926).
- GUTSELL, J. S.: Influence of certain water conditions especially dissolved
gases on trout. Ecology **10**, 77 (1929).
- HAASE-EICHLER, R.: Beiträge zur Reizphysiologie von *Hydra*. Zool. Jb.,
Physiol. **50**, 265 (1931).
- HAEMPEL, O.: Über die Wirkung höherer O₂-Konzentration auf Fische usw.
Z. vergl. Physiol. **7**, 553 (1928).
- HAFFNER, K. v.: Untersuchungen über die Symbiose von *Dalyella viridis* und
Chlorohydra viridissima mit Chlorellen. Z. Zool. **126**, 1 (1925).

- HALBFASS, W.: Wie geschieht die Anreicherung tieferer Wasserschichten von Seen und Meeren mit atmosphärischem O_2 . Verh. internat. Ver. theor. u. angew. Limnologie **5**, 284 (1931).
- HALL, F. G.: The influence of varying O_2 -tensions upon the rate of O_2 -consumption in marine fishes. Amer. J. Physiol. **88**, 212 (1929).
- The ability of the common mackerel and certain other marine fishes to remove dissolved O_2 from seawater. Amer. J. Physiol. **93**, 417 (1930).
- The respiration of puffer fish. Biol. Bull. Mar. biol. Labor. Wood's Hole **61**, 457 (1931).
- Adaptations of mammals to high altitudes. J. of Mammal **18**, 468 (1937).
- B. DILL and G. BARRON: Comparative Physiology in high altitudes. J. cellul. a. comp. Physiol. **8**, 301 (1936).
- and F. H. McCUTCHEON: The affinity of haemoglobin for O_2 in marine fishes. J. cellul. a. comp. Physiol. **11**, 205 (1938).
- HALL, V. E.: The muscular activity and O_2 -consumption of *Urechis caupo*. Biol. Bull. Mar. biol. Labor. Wood's Hole **61**, 400 (1931).
- HAMON, FR., S. KOLODNY et A. MAYER: Recherches sur l'influence de la tension d'oxygène sur les échanges. II. Ann. de Physiol. **11**, 211 (1935).
- HARDER, R.: Jb. Bot. **56**, 254 (1915).
- HARMS, J. W.: Die Realisation von Genen und die konsekutive Adaption. I. II. Z. Zool. **133**, 211 (1929); **140**, 167 (1932).
- Der Individualzyklus bei *Gecarcinus lagostomus* nebst Beobachtungen zur Autotomie. Zool. Anz. **104**, 65 (1933).
- HARNISCH, O.: Verbreitung und ökologische Bedeutung des Hämoglobins bei den Chironomidenlarven. Verh. internat. Zool. Kongr. Budapest **10**, 345 (1927).
- Daten zur Respirationphysiologie hämoglobinführender Chironomidenlarven. Z. vergl. Physiol. **11**, 285 (1930).
- Untersuchungen über den Gaswechsel von *Fasciola hepatica*. Z. vergl. Physiol. **17**, 365 (1932a).
- Studien zur Physiologie des Gaswechsels von Tieren ohne Regulierung der O_2 -Aufnahme bei wechselndem O_2 -Partialdruck. Z. vergl. Physiol. **16**, 335 (1932b).
- Untersuchungen zur Kennzeichnung des O_2 -Verbrauches von *Triaenophorus nodulosus* und *Ascaris lumbricoides*. Z. vergl. Physiol. **19**, 310 (1933a).
- Respirationphysiologische Grundlagen der Ökologie der Chironomidenlarven. Zool. Anz. Suppl. **6**, 209 (1933b).
- Daten zur Beurteilung des O_2 -Verbrauches an *Ascaris lumbricoides*. Z. vergl. Physiol. **22**, 50 (1935a).
- Versuch einer Analyse des O_2 -Verbrauches von *Tubifex tubifex*. Z. vergl. Physiol. **22**, 450 (1935b).
- Primäre und sekundäre Oxybiose der Larve von *Chironomus Thummi*. Z. vergl. Physiol. **23** (1936).
- Beobachtungen und Gedanken über den Atemrhythmus der Pinnipedier. Zool. Anz. **117**, 225 (1937a).
- Die Funktion der präanalen Oberflächenvergrößerungen der Larve von *Chironomus Thummi* bei sekundärer Oxybiose. Z. vergl. Physiol. **24**, 198 (1937b).
- Primäre und sekundäre Oxybiose wirbelloser Tiere. Zool. Anz. Suppl. **10**, 129 (1937c).
- *Chironomus* und *Tanytarsus*. Ein hydrophysiologisches Problem. Biol. Zbl. **57**, 628 (1937d).
- Zur Analyse des O_2 -Verbrauches der Larven von *Chloeon dipterum* und *Ephemera vulgata*. Z. vergl. Physiol. **26**, 548 (1939).

- HARVEY, E. B.: The effect of lack of O₂ on the sperm and unfertilized eggs of *Arbacia punct.* Biol. Bull. Mar. biol. Labor. Wood's Hole 58, 288 (1930).
- HAZELHOFF, E. H.: Über eine neue Form der Atmungsregulierung (Diffusionsregulierung) bei Insekten und Spinnen. Verslg afdeel. natuurlunde, kon. akad., Amsterd. 35, 153 (1926).
- Über die Ausnutzung des O₂ bei verschiedenen Wassertieren. Z. vergl. Physiol. 26, 306 (1938).
- HEBERDEY, R. F.: Beiträge zum Bau des Subelytralraumes und zur Atmung der Coleopteren. Z. Morph. u. Ökol. Tiere 33, 667 (1938).
- HELFF, O. M. and K. J. STUBBLEFIELD: The influence of O₂-tension on the O₂-consumption of *Rana pipiens* larvae. Physiologic. Zool. 4, 271 (1931).
- HENDERSON, L. J. and C. D. MURRAY: Blood as a physiochemical system. J. of biol. Chem. 65, 407 (1925).
- HERSHEY, J. W.: Components of air in relation to animal life. Science (N.Y.) 1930, 394.
- HERTER, K.: Tropismen. Tab. Biol. 4, 359 (1927).
- Die Ökologie der Hirudineen. BRONNS Klassen und Ordnungen im Tierreich, Bd. 4. 3. Abt., 4. Buch, Hirudineen, S. 381. 1937.
- HESS, W. R.: Die Regulierung der Atmung. Leipzig 1931.
- HESSE, R.: Tiergeographie auf ökologischer Grundlage. Jena 1924.
- Ökologie der Tiere. Handwörterbuch der Naturwissenschaften, Bd. 7, S. 369. 1932.
- Ökologie. Fortschr. Zool. 2 (1937).
- HIESTAND, W. A.: The influence of varying tensions of O₂ upon the respiratory metabolism of certain aquatic insects and the cray-fish. Physiologic. Zool. 4, 246 (1931).
- HILBER, H.: Der formative Einfluß der Luft auf die Atmungsorgane. Morpholog. Jb. 71, 181 (1932).
- Experimentell erzeugte Lungenregeneration. Verh. dtsch. anat. Ges. 1934, 189.
- HOFFMANN, C.: Die Atmung der Meeresalgen und ihre Beziehung zum Salzgehalt. Jb. Bot. 71, 214 (1929).
- HOGGEN, E. and A. ZOOND: Respiratory exchange in the fresh water crab, *Potamonautes perlatius*. Trans. roy. Soc. S. Africa 18, 283 (1930).
- HORA, S. L.: Ecology, bionomics and evolution of the torrential fauna etc. Phil. Trans. roy. Soc. Lond. B 218, 171 (1930).
- Physiology, bionomics and evolution of the air breathing fishes of India. Trans. nat. Inst. Sci. India 1, 1 (1935).
- Ecology of the gobioid fishes of the Gangetic Delta. Verh. 12. internat. Kongr. Zool. 2 (1937).
- HOTOVY, R.: Die Abhängigkeit des O₂-Verbrauches von der Temperatur und Körpergröße bei *Triops cancriformis*. Zool. Anz. 122, 198 (1938).
- HUBAULT, E.: Contributions à l'étude des invertébrés torrenticoles. Bull. biol. France et Belg. Suppl. 9 (1927).
- HUTCHINSON, G. E.: On the relation between the O₂-deficit and the productivity and typology of lakes. Intern. Rev. d. Hydrobiol. 36, 336 (1938).
- HYKES, O. V.: Régulation des mouvements respiratoires chez les tuniciers. C. r. Soc. Biol. Paris 95, 1452 (1926).
- HYMAN, H. L.: The effect of O₂-tension on the O₂-consumption in *Planaria* and some echinoderms. Physiologic. Zool. 2, 505 (1929).
- Relation of O₂-tension to O₂-consumption in *Nereis virens*. J. of exper. Zool. 61, 209 (1932).
- IRVING, L.: The protection of whales from the danger of caisson disease. Science (N.Y.) 1935, 560.
- The respiration of beaver. J. cellul. a. comp. Physiol. 9, 437 (1937).

- IRVING, L.: Respiration in diving mammals. *Physiologic. Rev.* **19**, 112 (1939).
- M. SOLANDT, Y. SOLANDT and C. FISCHER: Respiratory characteristics of the blood of the Seal. *J. cellul. a. comp. Physiol.* **6**, 393 (1935a).
- — — The respiratory metabolism of the Seal and its adjustment to diving. *J. cellul. a. comp. Physiol.* **7**, 137 (1935b).
- ISHIDA, SH.: On the O₂-consumption in the oyster, *Ostrea gigas*, under various conditions. *Sci. Rep. Tôhoku Univ.* **IV 10**, 619 (1935).
- IZQUIERDO, J. J.: Le débit respiratoire des habitants de la ville de Mexico. *J. Physiol. et Path. gén.* **25**, 495 (1927).
- JANISCH, E.: Zur BekämpfungsbioLOGIE des Brotkäfers *Sitodrepa panicea*. *Arb. biol. Reichsanst. Land- u. Forstw.* **12**, 243 (1925).
- JENSEN, P.: Über den Geotropismus niederer Tiere. *Pflügers Arch.* **53** (1893).
- JOHNSON, L.: The control of respiratory movements in *Crustacea* by O₂ and CO₂. *J. of exper. Biol.* **13**, 467 (1936).
- JORDAN, H.: Über die Rolle des Hämocyanins bei der Atmung. *Z. vergl. Physiol.* **2**, 381 (1925).
- Allgemeine, vergleichende Physiologie. Leipzig 1926.
- Die Regulierung der Atmung bei Insekten und Spinnen. *Z. vergl. Physiol.* **5**, 179 (1927).
- Le réglage de la consommation de l'oxygène chez les animaux à tension gazeux alvéolaire inconstante. *Arch. néerl. Physiol.* **15**, 198 (1930a).
- Tiere mit inkonstanter Lungengasspannung und die Bedeutung limitierender Faktoren. *Naturwiss.* **1930b**, 607.
- u. J. GUITTART: Die Regulierung der Atmung bei *Astacus fluviatilis*. *Proc. roy. Acad. Amsterd.* **41**, 2 (1938).
- u. B. SCHWARZ: Einfache Apparate zur Gasanalyse und Mikrorespirometrie in bestimmten Gasgemischen und über die Bedeutung des Hämoglobins beim Regenwurm. *Pflügers Arch.* **185**, 311 (1920).
- JUDAY, CH.: A fresh water anaerobic ciliate. *Biol. Bull. Mar. biol. Labor. Wood's Hole* **36**, 92 (1921).
- JÜRGENS, O.: Die Wechselbeziehungen von Blutkreislauf, Atmung und Osmoregulation bei Polychäten. *Zool. Jb., Allg. Zool.* **55**, 1 (1935).
- KALABUCHOW, N. J.: Anabiose bei Wirbeltieren und Insekten bei Temperaturen unter 0°. *Zool. Jb., Allg. Zool.* **55**, 47 (1935).
- KARNY, H.: Biologie der Wasserinsekten. Wien 1934.
- KARSTEN, G.: Über die Mangrovevegetation im malaischen Archipel. *Biblioth. Bot.* **5** (1891).
- KAWAGUTI, S.: On the respiration of *Branchiura sow.* *Mem. Fac. Sci. agricult. Taihoku Univ.* **14**, 91 (1936).
- KEILIN: *Proc. roy. Soc. Lond. B* **98**, 317 (1925).
- KEMPNER, W.: Effect of low O₂-tension upon respiration and fermentation of isolated cells. *Proc. Soc. exper. Biol. a. Med.* **35**, 148 (1936).
- KESTNER: *Z. Biol.* **73**, 1, 7 (1921).
- KEYS, A.: Die Wirkung des Höhenklimas und die Akklimatisierungsprozesse in großer Höhe. *Erg. inn. Med.* **54**, 585 (1938).
- KILLIAN, H. u. K. KUHLMANN: Der Regulierungsmechanismus der Lungenentfaltung und Atemoberfläche. *Arch. klin. Chir.* **190**, 615 (1937).
- KLADIENKO, D.: Einfluß von endogenen Faktoren auf die Fischatmung. *Med. Z. Akad. Nauk. USSR.* **8**, 425 (1938).
- KNIPOWITCH, N. M.: Zur Hydrologie und Hydrobiologie des Schwarzen und des Asowschen Meeres. *Internat. Rev. d. Hydrobiol.* **16**, 81 (1926).
- KOCH, A.: Messende Untersuchungen über den Einfluß von O₂ und CO₂ auf *Culex*-Larven bei der Submersion. *Zool. Jb., Allg. Zool.* **37**, 361 (1920).

- KOCH, H.: Essai d'interpretation de la soidisant reduction vitale de sels d'argent par certains organes d'arthropodes. Ann. Soc. sci. Brux. **54**, 346 (1934).
- The absorption of chloride Ions by the anal papillae of diptera larvae. J. of exper. Biol. **15**, 152 (1938).
- KOCH, H.-J. A.: Recherches sur la physiologie du système trachéen clos. Mém. Acad. roy. Belgique, Cl. Sci. **16**, 1 (1936).
- KOKUBO, S.: Contribution to the research on the respiration of fishes. II. Sci. Rep. Tôhoku Univ., IV **5**, 249 (1930).
- KONOPACKI: Über den Atmungsprozeß bei Regenwürmern. Anz. Akad. Wiss. Krakau, Math.-naturwiss. Kl. **1907**.
- KOSHANCHIKOV, J. V.: The peculiarities of gaseous metabolism in insect tissues. C. r. Acad. Sci. USSR., N. s. **19**, 759 (1938).
- KRAMER, G.: Untersuchungen über den Stoffwechsel der Seeanemone. Zool. Jb., Physiol. **58**, 162 (1937).
- KRAMER, H.: Beiträge zur Biologie von *Naucoris* mit besonderer Berücksichtigung der Atmung. Arch. f. Hydrobiol. **28**, 523 (1935).
- KRAWANY, H.: Trichopterenstudien. Internat. Rev. d. Hydrobiol. **32**, 241 (1935).
- KROGH, A.: The respiratory exchange of animals and man. London 1916.
- Studien über Tracheenrespiration. Pflügers Arch. **179**, 95, 113 (1920).
- and L. LEITCH: The respiratory function of the blood in fishes. J. of Physiol. **52**, 288 (1919).
- KRÜGER, FR.: Untersuchungen zur Kenntnis des aeroben und anaeroben Stoffwechsels des Schweinespulwurms. Zool. Jb., Allg. Zool. **57**, 1 (1936).
- Neue Versuche über die Bedeutung des Hämoglobins im Blute des Regenwurms. Zool. Anz., Suppl. **11**, 141 (1938).
- KÜHN, A.: Die Orientierung der Tiere im Raum. Jena: Gustav Fischer 1919.
- KUSNETZOW, J. and S. KARSINKIN: Direct method for the quantitative study of bacteria in water etc. Zbl. Bakter. II **83**, 169 (1931).
- LACOSTE, A. et A. BAUDRIMONT: Dispositifs d'adaptation fonctionelle à la plongé dans l'appareil respiratoire de *Phocaena communis*. C. r. Soc. Biol. Paris **113**, 1208 (1933a).
- Dispositifs d'adaptation fonctionelle à la plongé dans l'appareil respiratoire du marsouin. Archives d'Anat. **17**, 1 (1933b).
- LANDOLT-BÖRNSTEIN: Physikalisch-chemische Tabellen, 1923.
- LASKOWSKI, M.: Über die O₂-Aufnahme durch die Haut beim Frosche. Acta Biol. exper. (Warszawa) **4**, 1 (1930).
- LAURIE, A. H.: Some aspects of respiration in the blue and fin whales. Cambridge 1933.
- LAUTERBORN, R.: Die sapropelische Lebewelt. Verh. naturh. Ver. Heidelberg, N. F. **13** (1914/17).
- LEDEBUR, J. v.: Beiträge zur Physiologie der Schwimmblase der Fische. V. Z. vergl. Physiol. **25**, 156 (1937).
- LEINER, M.: Die Atmung des kurzschnauzigen Seepferdchens und seiner Embryonen und Jungfische. Z. vergl. Physiol. **24**, 143 (1937).
- Die Physiologie der Fischatmung. Leipzig: Akademische Verlagsgesellschaft 1938.
- LEITCH, J.: The function of hæmoglobin in invertebrates with special reference to *Planorbis* and *Chironomus* larvae. J. of Physiol. **50** (1915/16).
- LENZ, FR.: Salzwasser und präanale Blutkiemen der *Chironomus*-Larven. Naturwiss. Wschr., N. F. **19**, 87 (1920).
- Chironomiden und Seetypenlehre. Naturwiss. **13**, 5 (1925).
- Ein afrikanischer Salzwasser-*Chironomus* aus dem Mageninhalt eines Flamingos. Arch. f. Hydrobiol. **21**, 447 (1930).

- LIEBMANN, H.: Bakteriensymbiose bei Faulschlammziliaten. Biol. Zbl. **57** (1937).
 — Biologie und Chemismus der Bleilochsperre. Arch. f. Hydrobiol. **33**, 1 (1938).
- LINDEMANN, V. F.: Respiratory regulation in the leech. Physiologic. Zool. **5**, 560 (1932).
 — The relation of temperature to respiratory regulation in the leech. Physiologic. Zool. **8**, 311 (1935a).
 — The influence of the temperature upon the respiratory function of an amphipod crustacea. Anat. Rec. **64**, Suppl., 82 (1935b).
- LINDROTH, A.: Atmungsregulation bei *Astacus fluviatilis*. Ark. Zool. (schwed.) **30**, Nr 3, 1 (1938).
- LOEB, J.: Über den Geotropismus bei Tieren. Pflügers Arch. **49**, 175 (1891).
- LÖHR, H.: Untersuchungen zur Physiologie und Pharmakologie der Lunge. Z. exper. Med. **39**, 67 (1924).
- LÖVINSOHN, H.: Der Einfluß ultravioletter Strahlen auf den Erythrozyten-spiegel von *Rana fusca*. Zool. Jb., Allg. Zool. **47**, 329 (1930).
- LÖWENSTEIN, O.: The respiratory rate of *Gammarus chev.* in relation to differences in salinity. J. of exper. Biol. **12**, 217 (1935).
- LOMBROSO, U. e C. ARTOM: Sulla produzione di CO₂ durante l'inibizione respiratoria dell'anitra. Boll. Soc. ital. Biol. sper. **4**, 103 (1929).
- LONG, J. H. and F. FENGER: On the normal reaction of the intestinal tract. J. amer. chem. Soc. **39** (1917).
- LUND, J.: O₂-concentration as a limiting factor in the respiratory metabolism of *Planaria ag.* Biol. Bull. Mar. biol. Labor. Wood's Hole **41**, 203 (1921).
- LUNDBECK, J.: Die Bodentierwelt norddeutscher Seen. Arch. f. Hydrobiol. **7**, Suppl. (1926).
- LUNDGÄRDH, H.: Der Kreislauf der CO₂ in der Natur. Jena 1924.
- LUTZ, R.: The effect of low O₂-tension on the pulsations of the isolated Holothurian cloaca. Biol. Bull. Mar. biol. Labor. Wood's Hole **58**, 74 (1930).
- MCCUTCHEON, H.: Haemoglobin function during the life history of the Bullfrog. J. cellul. a. comp. Physiol. **8**, 63 (1936).
 — The O₂-affinity of haemoglobin in splenectomized bullfrogs. J. of exper. Biol. **15**, 431 (1938).
 — and F. G. HALL: Haemoglobin in the amphibia. J. cellul. a. comp. Physiol. **9**, 191 (1937).
- McFARLAND, A. and B. DILL: A comparative study of the effects of reduced O₂-pressure on man during acclimatisation. J. aviat. Med. **9**, 18 (1938).
- MALOEUF, N. S. R.: Quantitative studies on the respiration of aquatic arthropods etc. J. of exper. Zool. **74**, 323 (1936).
 — Studies on the respiration (and osmoregulation) of animals. I. Z. vergl. Physiol. **25**, 1 (1937a).
 — Studies on the respiration on animals. II. Z. vergl. Physiol. **25**, 29 (1937b).
- MANERY, F., Sc. WELCH and L. IRVING: The postmortal formation of lactic acid in the muscles of seals, ducks and hens. J. cellul. a. comp. Physiol. **7**, 131 (1935).
- MANGOLD, E.: Sinnesphysiologische Studien an Echinodermen. Z. allg. Physiol. **9** (1909).
- MARTINI, E.: Über Beeinflussung der Kiemenlänge von *Aedes*-Larven durch das Wasser. Verh. internat. Ver. theor. angew. Limnologie **1** (1923).
- MATULA, J.: Untersuchungen über die Funktionen des Zentralnervensystems bei Insekten. Pflügers Arch. **138**, 388 (1911).
- MAYER, A. et L. PLANTEFOL: Ann. de Physiol. **1**, 64, 239 (1925).

- MERKER, E.: Birgt die Gebundenheit von gewissen Seetieren an eine bestimmte Salzdichte des Wohnwassers ein Atmungsproblem. Zool. Jb., Zool. **44**, 483 (1928a).
- Warum kommen die Regenwürmer bei Regen aus dem Erdreich und warum sterben sie in Wasserlachen. Natur u. Mus. **58**, 361, 405 (1928b).
- Treibt Atemnot oder Wassernot den Regenwurm aus der Erde? Zool. Jb., Physiol. **48**, 667 (1931).
- MEYER, H.: Die Atmung von *Uranoscopus scaber* in ihrer Abhängigkeit vom O_2 -Druck, vom p_H und von der Temperatur im Außenmedium. Z. vergl. Physiol. **22**, 435 (1935a).
- Die Atmung von *Asterias rubens* und ihre Abhängigkeit von verschiedenen Außenfaktoren. Zool. Jb., Allg. Zool. **55**, 349 (1935b).
- MINDER, L.: Studien über den O_2 -Gehalt des Zürichsees. Arch. f. Hydrobiol. Suppl. **3** (1923).
- MIRIS, H. v.: Zur Biologie der Corixiden. Z. Morph. u. Ökol. Tiere **30**, 479 (1935).
- MÖDLINGER, G.: Beiträge zur Morphologie der Respirationsorgane der Landisopoden. Studia zool. (Budapest) **2**, 25 (1931).
- MOLDAVSKAJA, A.: Der Einfluß des O_2 -Hungers auf die Entwicklung des unteren Wimperkranzes bei *Vorticella nebulifera*. Arch. Protistenkunde **88**, 353 (1937).
- MOLLIARD, M.: Action d'un enrichissement de l'atmosphère en O_2 sur le développement des plantes. C. r. Acad. Sci. Paris **201**, 1160 (1935).
- MORGAN, H. and D. O'NEIL: The function of the tracheal gills in larvae of the caddisfly. Physiologic. Zool. **4**, 361 (1931).
- NAUMANN, E.: Grundzüge der regionalen Limnologie. Die Binnengewässer, Bd. 11. 1932.
- NOGUCHI, M.: On the O_2 -dissociation curve of haemoglobin in the umbilical blood of new-borns. Jap. J. Obstetr. **20**, 358 (1937).
- OLTHOF, H. J.: Die CO_2 als Atemreiz bei Wassertieren, insbesondere bei Süßwasserfischen. Z. vergl. Physiol. **21**, 534 (1934).
- Über die Luftatmung von *Eriocheir sinensis*. Z. vergl. Physiol. **23**, 293 (1936).
- ORR, A. P.: Variations in some physical and chemical conditions on and near low isles reef. Brit. Mus. (Nat. Hist.) Great Barr. Reef Exp. Sci. Rep. II, Nr 4, p. 87. 1933.
- ORR, B. and WATSON: Study of the respiratory mechanism in the duck. J. of Physiol. **46**, 337 (1913).
- OSBORNE, W. A. and E. MUNTZ: The action of CO_2 on the respiration of the gold fish. Biochemic. J. **1**, 377 (1906).
- OZOLINŠ, N.: Das Blutbild und die Atmungsintensität des *Misgurnus fossilis* bei verschiedenen Atmungsbedingungen. Latv. biol. Biedr. Raksti **5**, 101 (1935).
- PANTIN, A.: Physiological adaptation. J. Linnean Soc. Zool. **37**, 705 (1932).
- PATRASÇANU, M.: Sur la structure de la branchie de *Paludina vivipara*. C. r. Soc. Biol. Paris **117**, 130 (1934).
- PAUSE, J.: Beiträge zur Biologie und Physiologie der Larve von *Chironomus greg.* Zool. Jb., Allg. Zool. **36**, 339 (1919).
- PEARSE, S.: Animal ecology. New York 1926.
- and H. ACHTENBERG: Habits of the yellow perch in certain Wisconsin lakes. Bull. U.S. Bur. Fish. **36**, 297 (1921).
- PETERS, FR.: Über die Atembewegungen des Flußkrebse *Astacus fluviatilis*. Z. vergl. Physiol. **25**, 591 (1938).

- PETERS, H.: Über den Einfluß des Salzgehaltes im Außenmedium auf den Bau und die Funktion der Exkretionsorgane decapoder Crustaceen. *Z. Morph. u. Ökol. Tiere* **30**, 355 (1935).
- PETRIK, J. M.: La régulation de la consommation d'oxygène chez les actinies. *C. r. Soc. Biol. Paris* **106**, 399 (1931).
- PETTENKOFER, M. v.: Über den CO₂-Gehalt der Grundluft in Geröllböden usw. *Z. Biol.* **7** (1871).
- PHILLIPP, P.: Experimentelle Studien zur Ökologie von *Chironomus Thum.* *Zool. Anz.* **122**, 237 (1938).
- PIEH, S.: Über die Beziehungen zwischen Atmung, Osmoregulation und Hydratation der Gewebe bei euryhalinen Meeresevertebraten. *Zool. Jb., Allg. Zool.* **56**, 130 (1938).
- PIÉRON, H.: De l'influence de l'oxygène dissous sur le comportement des invertébrés marins. *C. r. Soc. Biol. Paris* **64**, 886, 1061 (1908).
- POCKRANDT, D.: Beiträge zur Histologie der Schlangenhaut. *Zool. Jb., Anat. u. Ontog.* **62**, 275 (1937).
- POWERS, E. B.: Certain conditions of existence of fishes, especially as concerns their internal environment. *Ecology* **15**, 69 (1934).
- PRECHT, H.: Der Beginn der Luftatmung bei Planorbiden und deren Abhängigkeit von äußeren Faktoren. *Zool. Anz.* **115**, 113 (1936).
- PRINGSHEIM, E.: Zur Physiologie saprophytischer Flagellaten. *Beitr. allg. Botanik* **1921**.
- PROBST, G.: Über den O₂-Verbrauch in der Lunge von *Planorbis corn.* und *Limnaea stag.* und die Bedeutung des Hämoglobins für die Lungenatmung von *Planorbis*. *Verh. schweiz. naturforsch. Ges.* **1933**, 386.
- PRÜFFER, J.: Beobachtungen über die postembryonale Entwicklung des in O₂-Atmosphäre gezüchteten Schwammspinners. *Bull. internat. Acad. Polon. Sci. Lettre, Cl. Sci. Math.-Naturw., sér. B., Cracovie* **1919**, 22.
- PÜTTER, A.: Die Wirkung erhöhter O₂-Spannung auf die lebende Substanz. *Z. allg. Physiol.* **1904**, 363.
- Allgemeine Lebensbedingungen. *Handbuch der normalen und pathologischen Physiologie*, Bd. 1, S. 322. 1927.
- PULIKOVSKY, N.: Die respiratorischen Anpassungserscheinungen bei den Puppen der Simuliiden. *Z. Morph. u. Ökol. Tiere* **7**, 384 (1927).
- QUASTEL, H. and M. STEPHENSON: Experiments on "strict" anaerobes. I. *Biochemic. J.* **20**, 1125 (1926).
- RABEN, K. v.: Veränderungen im Kiemendeckel und in den Kiemen einiger Brachyuren im Verlauf der Anpassung an die Feuchtluftatmung. *Z. Zool.* **145**, 425 (1934).
- RAFFY, A.: La respiration des vers de terre dans l'eau. *C. r. Soc. Biol. Paris* **105**, 862 (1930).
- Influence des fortes teneurs en oxygène sur la respiration de divers poissons. *C. r. Soc. Biol. Paris* **106** (1931).
- Influence des variations de salinité sur l'intensité respiratoire de la telpheuse et de l'écrevisse. *C. r. Acad. Sci. Paris* **198**, 680 (1934a).
- L'intensité respiratoire de quelques gastéropodes d'eau douce dans l'air et dans l'eau. *C. r. Soc. Biol. Paris* **117**, 130 (1934b).
- et P. H. FISCHER: Utilisation de l'oxygène gazeux et de l'oxygène dissous chez des Pulmonés aquatiques. *C. r. Soc. Biol. Paris* **112**, 782 (1933).
- et M. FONTAINE: De l'influence des variations de salinité sur la respiration des Civelles. *C. r. Soc. Biol. Paris* **104**, 466 (1930).
- RAHM, G.: Grenzen des Lebens? Studien in heißen Quellen. *Forschgn u. Fortschr.* **13**, 381 (1937).
- REDFIELD, A. C.: *Quart. Rev. Biol.* **8**, 31 (1933).
- The haemocyanins. *Quart. Rev. Biol.* **9**, 175 (1934).

- REDFIELD, A. C., T. COOLIDGE and L. HURD: The transport of O₂ and CO₂ by some bloods containing haemocyanin. J. biol. Chem. **69**, 475 (1926).
- and M. FLORKIN: The respiratory function of the blood of *Urechis caupo*. Biol. Bull. Mar. biol. Labor. Wood's Hole **61**, 185 (1931).
- and L. HURD: The respiratory function of the Haemocyanins. Proc. nat. Acad. Sci. U.S.A. **11**, 152 (1925).
- REMANE, E.: Die Brackwasserfauna. Verh. dtsh. zool. Ges. **1934**, 34.
- REUSS, H.: Die Wirkung der CO₂ auf die Atmung der niederen Wirbeltiere, insbesondere der Fische. Z. Biol. **53**, 555 (1910/11).
- RICHTER, CH.: Observations sur la note précédente. C. r. Acad. Sci. Paris **184**, 773 (1927).
- RICHTER, R.: Die Wirkung einiger klimatischer Faktoren sowie der jahreszeitlichen Periodizität auf den Erythrozytenspiegel europäischer Reptilien. Diss. Berlin 1933.
- ROCH, F.: Experimentelle Untersuchungen an *Cordylophora caspia* über die Abhängigkeit ihrer geographischen Verbreitung usw. Z. Morph. u. Ökol. Tiere **2**, 350 (1924).
- ROCHE, J.: Introduction à la biochimie comparé des pigments respiratoires. Ann. de Physiol. **10**, 583 (1934).
- RODE, P.: Résistance des planaires à la privation d'O₂ en fonction de l'étiologie. C. r. Soc. Biol. Paris. **92**, 1269 (1925).
- ROOR, R. W.: The respiratory function of the blood of marine fishes. Biol. Bull. Mar. biol. Labor. Wood's Hole **61**, 427 (1931).
- RUSSEL, S.: The vertical distribution of plancton in the sea. Biol. Rev. Cambridge philos. Soc. **1927**, 213.
- RUTER, G.: Les moeurs aquatiques de *Bagous subcarinatus*. Rev. franç. Entomol. **4**, 153 (1937).
- RUTTNER, F.: Bemerkungen über den O₂-Gehalt der Gewässer und dessen respiratorischen Wert. Naturwiss. **14**, 1237 (1926).
- Die Schichtung in tropischen Seen. Verh. internat. Ver. theor. angew. Limnologie **5**, 44 (1931).
- RYLOW, M.: Über den Einfluß des im Wasser gelösten O₂ und H₂S auf den Lebenszyklus und die vertikale Verteilung des Infusors *Loxodes rostrum*. Intern. Rev. d. Hydrobiol. **11**, 179 (1923).
- SCHAEFERCLAUS, W.: Untersuchungen über den Stoffwechsel, insbesondere die Atmung niederer Wassertiere. Z. Fischerei u. Hilfswiss. **23**, 167 (1925).
- Lehrbuch der Teichwirtschaft. Berlin 1933.
- SCHEER, D.: Verbreitung und Rolle des Hb bei Chironomidenlarven. Sitzgsber. Ges. naturforsch. Freunde Berl. **1935**, 123.
- SCHEURING, L.: Zeigt der Enddarm des Schlammbeißers Anpassungen an erhöhte respiratorische Tätigkeit? Biol. Zbl. **45**, 614 (1925).
- Die Wanderungen der Fische. Erg. Biol. **5**, 404 (1929); **6**, 5 (1930).
- SCHLICHER, J.: Vergleichend-physiologische Untersuchungen über die Blutkörperchenzahl bei Knochenfischen. Zool. Jb., Physiol. **43**, 121 (1927).
- SCHLIEPER, C.: *Stylarivoides plumosus*. Z. Morph. u. Ökol. Tiere **7**, 320 (1927).
- Über die Einwirkung niederer Salzkonzentrationen auf marine Organismen. Z. vergl. Physiol. **9**, 478 (1929).
- Über das Eindringen mariner Tiere in das Süßwasser. Biol. Zbl. **51**, 401 (1931).
- Die Abhängigkeit der Atmungsintensität der Organismen vom Wassergehalt und dem kolloidalen Zustand des Protoplasmas. Biol. Zbl. **56**, 87 (1936).
- Gaswechsel. Fortschr. Zool. **1** (1937).

- SCHLIEPER, C.: Über die Beziehungen zwischen Wasser- und Energiehaushalt der Organismen. *Forschgn u. Fortschr.* **14**, 93 (1938).
- u. F. PETERS: Über den Einfluß der O_2 - und CO_2 -Spannungen des Außenmediums auf die Atembewegungen von *Astacus fluviatilis*. *Zool. Anz.* **120**, 95 (1937).
- SCHMIDT, U.: Beiträge zur Anatomie und Histologie der Hydracarinaen. *Z. Morph. u. Ökol. Tiere* **30**, 98 (1935).
- SCHMITT, W.: Wie wird der Gaswechsel des Fötus reguliert? *Dtsch. med. Wschr.* **1925 I**, 189.
- SCHNEIDER, W.: Freilebende Süßwassernematoden aus ostholsteinschen Seen. *Arch. f. Hydrobiol.* **13**, 696 (1922).
- SCHÖTTLE, E.: Morphologie und Physiologie der Atmung bei wasser-, schlamm- und landlebenden *Gobiiformes*. *Z. Zool.* **140**, 1 (1932).
- SCHULZ, B.: Einführung in die Hydrographie der Nord- und Ostsee. GRIMPE-WAGLER: Tierwelt der Nord- und Ostsee, Bd. I, 2. Lfg, S. 21.
- SCHWABE, E.: Über die Osmoregulation verschiedener Krebse. *Z. vergl. Physiol.* **19**, 183 (1933).
- SEGAAR, J.: Die Atmungsbewegungen von *Astacus fluviatilis*. *Z. vergl. Physiol.* **21**, 492 (1934).
- Regulierung der Atmung beim Flußkrebse. *Acta brevia neerl. Physiol.* **5**, 2 (1935).
- SEIFERT, R.: Raumorientierung und Phototaxis der anostraken Euphyllipoden. *Z. vergl. Physiol.* **16**, 111 (1932).
- SEIWELL, R.: Consumption of O_2 in sea water under controlled laboratory conditions. *Nature (Lond.)* **1937**, 506.
- SGONINA, K.: Reizphysiologie des Igelhohes *Archaeopsylla erin.* und seiner Larve. *Z. Parasitenkde* **7**, 539 (1935).
- SIEDENTOFF, W.: Über die Darmatmung von *Leptodora kindt.* *Arb. ung. biol. Forsch.inst.* **3** (1930).
- SHELFORD, E. and C. ALLEE: The reactions of fishes to gradients of dissolved atmospheric gases. *J. of exper. Zool.* **14**, 207 (1913a).
- Rapid modification of the behaviour of fishes by contact with modified water. *J. of animal behaviour* **4**, 1 (1913b).
- SKRAMLIK, E. v.: Über den Kreislauf bei den Fischen. *Erg. Biol.* **11**, 1 (1935).
- SLATER, W. K.: The nature of the metabolic processes in *Ascaris lumbricoides*. *Biochemic. J.* **19**, 604 (1925).
- Anaerobic life in animals. *Biol. Rev. Cambridge philos. Soc.* **3**, 303 (1928).
- SMITH, D. H.: The central and reflex control of respiration in the frog. *J. of Physiol.* **95**, 305 (1939).
- SMITH, H. W.: Metabolism of the Lungfish *Protopterus aethiopicus*. *J. of biol. Chem.* **88** (1930).
- SONEHARA, S.H.: On the respiration of a pond snail, *Limnaea japonica*. *J. Sci. Hiroshima Univ. B* **4**, 15 (1935).
- STAHL, E.: Zur Biologie der Myxomyceten. *Bot. Ztg* **1884**.
- STAHN, J.: Über die Atmungsregulation, besonders die CO_2 -Regulation bei *Dixippus morosus* und *Aeschna grandis*. *Zool. Jb., Zool.* **46**, 1 (1928).
- STEDMAN, EL. u. EDG.: Haemocyanin. I. *Biochemic. J.* **19**, 544 (1925).
- STEPHENSON, A., A. ZOOND and J. EYRE: The liberation and utilisation of O_2 by the population of rock-pools. *J. of exper. Biol.* **11**, 162 (1934).
- STOCKER, O.: Physiologische und ökologische Untersuchungen an Laub- und Strauchflechten. *Flora (Jena)*, N. F. **21**, 334 (1927).
- STROUHAL, H.: Biologische Untersuchungen an den Thermen vom Warmbad Villach in Kärnten. *Arch. f. Hydrobiol.* **26**, 323 (1934).

- SUDZUKI, M.: Untersuchungen über *Cetacea*. VIII. Tohoku J. exper. Med. 5, 419 (1924).
- SWINDLE, F.: Superimposed respirations or Cheyne-Stokes breathing of amphibious and non amphibious mammals. Amer. J. Physiol. 79, 188 (1926).
- TAIT, J.: Some structural implications of the apparatus of respiration in animals. Trans. roy. Soc. Canada, V. Biol. Sci., III. s. 29, 1 (1935).
- TANG, P.-S.: On the rate of O₂-consumption by tissues and lower organisms as a function of O₂-tension. Quart. Rev. Biol. 8, 260 (1933).
- TARUSSOF, B.: Über Zellpermeabilität und Anpassungsfähigkeit bei Wassertieren. Protoplasma (Berl.) 9 (1930).
- THIENEMANN, A.: Vorläufige Mitteilung über Probleme und Ziele der biologischen Erforschung der neuen westfälischen Talsperren. Ber. Verslg bot. zool. Ver. Rheinl. u. Westf. 1909, 107.
- Der Bergbach des Sauerlandes. Internat. Rev. d. Hydrobiol. Suppl. 5, IV. s. (1912/13).
- Untersuchungen über die Beziehungen zwischen dem O₂-Gehalt des Wassers und der Zusammensetzung der Fauna in norddeutschen Seen. Arch. f. Hydrobiol. 12, 1 (1918).
- Die beiden *Chironomus*-Arten der Tiefenfauna der norddeutschen Seen. Arch. f. Hydrobiol. 13, 609 (1922).
- Hydrobiologische Untersuchungen an Quellen. Arch. f. Hydrobiol. 14, 151 (1924).
- *Mysis relicta*. Z. Morph. u. Ökol. Tiere 3, 389 (1925).
- *Pontoporeia affinis* und *Palasea quadrispinosa* in den norddeutschen Seen. Naturwiss. 14, 1233 (1926).
- Über die Edelmäräne und die von ihr bewohnten Seen. Arch. f. Hydrobiol. 19, 1 (1928a).
- *Mysis relicta* im O₂-armen Tiefenwasser der Ostsee und das Problem der Atmung in Salz- und Süßwasser. Zool. Jb., Allg. Zool. 45, 371 (1928b).
- Der O₂ im eutrophen und oligotrophen See. Die Binnengewässer, Bd. 4. Stuttgart 1928c.
- Limnologie. Handwörterbuch der Naturwissenschaften, Bd. 6, S. 433. 1931a.
- Tropische Seen und Seetypenlehre. Arch. f. Hydrobiol. Suppl. 9, 205 (1931b).
- THOMAS, J. B.: Die Atmungsregulierung von *Lumbricus*. Proc. roy. Acad. Amsterd. 38, 673 (1935).
- THORPE, W. H.: Experiments upon respiration in the larvae of certain parasitic *Hymenoptera*. Proc. roy. Soc. Lond. B 109, 450 (1932).
- Tracheal and blood gills in aquatic insect larvae. Nature (Lond.) 1933, 549.
- On a new type of respiratory interrelation between an insect parasite and its host. Parasitology 28, 517 (1936).
- THUNBERG, TH.: Der Gasaustausch einiger niederer Tiere in seiner Abhängigkeit vom O₂-Partialdruck. Skand. Arch. Physiol. (Berl. u. Lpz.) 17, 133 (1905).
- TIEMANN, FR.: Wachstum und Hypertrophie der Lunge von Mensch und Tier. Verh. dtsh. Ges. inn. Med. 1936, 217.
- TRIGT, H. VAN: Contributions to the physiology of the fresh water sponges. Tijdschr. nederl. Dierk.ver., II. s. 2. 17, 1 (1919).
- UTERMÖHL, H.: Limnologische Phytoplanktonstudien. Arch. f. Hydrobiol. Suppl. 5 (1925).
- VACEK, TH.: Contributions à l'étude de l'adaptation fonctionnelle des poumons des mammifères. C. r. Soc. Biol. Paris 93, 1107 (1925).

- VERWEY, J.: Einiges über die Biologie ostindischer Mangrovekrabben. *Treubia* **12**, 169 (1930).
- VERWORN, M.: Allgemeine Physiologie. Jena 1915.
- VINCENT, S. W. and A. T. CAMERON: A note on an inhibitory respiratory reflex on the frog and some other animals. *J. comp. Neur.* **31**, 283 (1920).
- VOGEL, R.: Über 3 an Salzwasser angepaßte Insektengattungen an der östlichen Mittelmeerküste. *Internat. Rev. d. Hydrobiol.* **17**, 355 (1927).
- VOSS, H. J.: Atmung und Geruchssinn bei Reptilien und Amphibien. Diss. Groningen 1936.
- WALLENGREN, H.: Physiologisch-biologische Studien über die Atmung bei den Arthropoden. II. *Lunds Univ. Årsskrift. (N. F. Avd. 2)* **10**, Nr 4 (1914a).
— Physiologisch-biologische Studien über die Atmung bei den Arthropoden. III. *Lunds Univ. Årsskrift (N. F. Avd. 2)* **10**, Nr 8 (1914b).
— Physiologisch-biologische Studien über die Atmung bei den Arthropoden. V. *Lunds Univ. Årsskrift (N. F. Avd. 2)* **11**, Nr 11 (1915).
- WALTER, H.: Die Bedeutung des Wassersättigungszustandes für die CO₂-Assimilation der Pflanzen. *Ber. dtsh. bot. Ges.* **46**, 530 (1928).
- WANG, L. SH.: A comparative study of the O₂ requirement of mosquito larvae. *Chin. med. J. Suppl.* **2**, 487 (1938).
- WARBURG, O. u. FR. KUBOWITZ: Atmung bei sehr kleinen O₂-Drucken. *Biochem. Z.* **214**, 5 (1929).
- WASHBOURN, R.: Metabolic rates of trout fry from swift and slow running waters. *J. of exper. Biol.* **13**, 145 (1936).
- WASTL, H. u. G. LEINER: Beobachtungen über die Blutgase bei Vögeln. *Pflügers Arch.* **227**, 367, 421, 460 (1931).
- WEBER, H.: Experimente mit *Tubifex* in O₂ zehrenden Medien. *Verh. schweiz. naturforsch. Ges.* **1933**, 387.
- WEIGMANN, R.: Zur Kältebeständigkeit poikilothermer Tiere. *Biol. Zbl.* **56**, 301 (1936).
- WEIMANN, R.: Über Schwankungen des O₂-Gehaltes in schlesischen Karpfenteichen. *Z. Fischerei u. Hilfswiss.* **34**, 439 (1936).
- WELCH, P. S. and L. SEHON: The periodic vibratory movements of the larvae of *Nymphula mac.* etc. *Ann. entomol. Soc. Amer.* **21**, 243 (1928).
- WELSH, M. F.: O₂-Production by *Zooxanthellae* in a Bermudan Turbellarian. *Biol. Bull. Mar. biol. Larbor. Wood's Hole* **70**, 282 (1936).
- WETZEL, A.: Der Faulschlamm und seine ciliaten Leitformen. *Z. Morph. u. Ökol. Tiere* **13** (1928).
- WIESE, A.: Beitrag zur Lebensgeschichte der großen Maräne. *Internat. Rev. d. Hydrobiol.* **32**, 137 (1935).
- WIGGLESWORTH, V. B.: The respiration of insects. *Biol. Rev. Cambridge philos. Soc.* **6**, 182 (1931).
— The extense of air in the tracheoles of some terrestrial insects. *Proc. roy. Soc. Lond. B* **109**, 354 (1932).
— The function of the annal gills of the mosquito larva. *J. of exper. Biol.* **10**, 16 (1933a).
— The adaptation of mosquito larvae to salt water. *J. of exper. Biol.* **10**, 27 (1933b).
— The regulation of respiration in the flea. *Proc. roy. Soc. Lond. B* **118**, 397 (1935).
- WILLEM, V. et R. BOELAERT: Les manoeuvres respiratoires de „*Periophthalmus*“. *Bull. Acad. Belg., Cl. Sci., V. s.* **23**, 942 (1937).
- WILLER, A.: Wind und Fischwasser. *Mitt. Fisch.ver. Prov. Brandenburg Ostpr.* **21** (1929).
- WILLMER, E. N.: Some observations on the respiration of certain tropical fresh water fishes. *J. of exper. Biol.* **11**, 283 (1934).

- WINDLE, W. F. and D. NELSON: Respiratory inhibition by CO₂ stimulation in the lungs of young ducks. J. cellul. a. comp. Physiol. **11**, 325 (1938).
- WINGFIELD, C. A.: Function of the gills of the mayfly nymph *Cloeon dipt.* Nature (Lond.) **1937**, 27.
- WINTERSTEIN, H.: Über die Atmung der Holothurien. Arch. di Fisiol. **17**, 33 (1909).
- Die physikalisch-chemischen Erscheinungen der Atmung. Handbuch der vergleichenden Physiologie, Bd. 1, 2. Hälfte. 1921.
- Atmungsregulation und Reaktionsregulation. Naturwiss. **11**, 625 (1923).
- Über die chemische Regulierung der Atmung bei den Cephalopoden. Z. vergl. Physiol. **2**, 315 (1925).
- WISLOCKI, B.: On the structure of the lungs of the porpoise. Amer. J. Anat. **44**, 47 (1929).
- The lungs of the manatee compared with those of other aquatic mammals. Biol. Bull. Mar. Biol. Labor. Wood's Hole **68**, 385 (1935).
- WIT, F.: Über den Einfluß der Luftfeuchtigkeit auf die Größe der Atemöffnung bei Landpulmonaten. Z. vergl. Physiol. **18**, 116 (1932).
- WOLVEKAMP, H. P.: Über die Blutfarbstoffe niederer Tiere. Zool. Anz. Suppl. **5**, 185 (1931).
- O₂-Transport durch Hämocyanin von *Octopus* und *Sepia*. Z. vergl. Physiol. **25**, 541 (1938).
- WREDE, u. F. H. KRAMER: Beiträge zur Atmung der Insekten, II. Pflügers Arch. **212**, 15 (1926).
- WUNDER, W.: Brutpflege und Nestbau bei Fischen. Erg. Biol. **7**, 118 (1931).
- Wie fangen planktonfressende Fische ihre Nahrungstiere? Z. vergl. Physiol. **17**, 321 (1932).
- Physiologie der Süßwasserfische Mitteleuropas. Handbuch der Binnenfischerei Mitteleuropas, Bd. II. 1936.
- YSSELING, M. A.: Über die Atmung der Weinbergschnecke. Z. vergl. Physiol. **13**, 1 (1930).
- ZAEFER, G.: Über Atmungsregulation und Gasstoffwechsel. Klin. Wschr. **1938 I**, 476.
- ZOOND, A.: Studies in the localisation of respiratory exchange in invertebrates. III. J. of exper. Biol. **8**, 263 (1931).
- and E. CHARLES: Studies in the localisation of respiratory exchange in invertebrates. I. J. of exper. Biol. **8**, 250 (1931).
- ZUNTZ, N.: Über die Bedeutung des O₂-Mangels und der CO₂ für die Innervation der Atmung. Arch. f. (Anat. u.) Physiol. **1897**, 379.
- ZYCHA, H.: O₂-Optimum und Nährböden „aerober“ Bakterien. Arch. Mikrobiol. **3**, 194 (1932).

Über die Atmung der Schwämme und Coelenteraten.

Von JOACHIM FRHR. VON LEDEBUR, Neustadt im Schwarzwald.

Inhaltsübersicht.

	Seite
I. Schwämme	262
II. Coelenteraten	271
Literatur	287

I. Schwämme.

Entsprechend ihrer einfachen Organisation besitzen die Schwämme ebenso wie die anderen Coelenteraten kein besonderes Atmungsorgan, und auch kein Blutgefäßsystem, das den Sauerstoff zu den einzelnen Zellen hin- und die Kohlensäure abtransportiert. Eine einfache Diffusion der Atmungsgase von der äußeren Oberfläche würde wegen der Massigkeit vieler Schwämme bei weitem nicht für den Sauerstoffbedarf dieser Organismen ausreichen. Es findet sich aber bei ihnen ein bei vielen Arten außerordentlich fein verzweigtes Kanalsystem, durch das dauernd mittels kleiner Pumpen (Geißelkammern, s. unten) ein Wasserstrom durch den Körper hindurchgepumpt wird, der gleichzeitig mit den festen Nahrungsteilchen die Atmungsgase befördert („Hydraulisches System“¹).

Während bei den typischen Atmungsorganen (Kiemen, Lungen) der Gasaustausch zwischen dem Organismus und dem äußeren Atmungsmedium auf bestimmte Organe beschränkt ist, von denen der Sauerstoff (O₂) erst zu den atmenden Zellen durch ein besonderes Leitungssystem (Blutgefäße) transportiert werden muß, wird bei den Schwämmen das Atmungsmedium selbst auf diese Weise zu den einzelnen Zellen hingebracht. Die meisten den Schwammkörper zusammensetzenden Zellen sind so in bezug auf ihren Gasaustausch genau so gestellt wie freilebende Einzeller.

Es liegt ein Vergleich mit dem Tracheensystem der Insekten nahe, bei denen ja auch das Atmungsmedium selbst — nur handelt es sich in diesem Falle um Luft — zu den atmenden Zellen direkt durch feine Kanäle (Tracheen) hingeleitet wird. Das „hydraulische System“ könnte so als „Wassertracheensystem“ bezeichnet werden.

Es mag darauf hingewiesen werden, was vom allgemeinen atmungsphysiologischen Standpunkte aus in bezug auf die Wirksamkeit der Atmung

¹ Nach E. HENTSCHEL: Handbuch der Zoologie von KÜKENTHAL, Bd. I, S. 306. 1923/25.

in Luft oder Wasser vielleicht von Interesse ist, daß bei dem „Lufttracheensystem“ der Insekten die Diffusion für einen ausreichenden Gaswechsel der Gewebe, jedenfalls in der Ruhe, bei vielen Insekten genügt. Besondere Ventilationsmechanismen treten, wenn überhaupt vorhanden, nur unter besonderen Umständen in Tätigkeit (KROGH). Bei dem „Wassertracheensystem“ der Schwämme wird das Wasser dagegen dauernd durch das Kanalsystem hindurchbewegt; wohl zum großen Teil, um neue Nahrung dem Tier zuzuführen. Aber es muß auch daran gedacht werden, daß infolge der außerordentlich viel langsameren Diffusionsvorgänge von Gasen in Wasser und dem sehr viel geringeren Sauerstoffgehalt im Wasser als in der Luft ein nicht dauernd erneuertes und durch das Röhrensystem hindurchgetriebenes wäßriges Atmungsmedium seine Funktion nicht erfüllen könnte. Es sei erwähnt, daß nach JORDAN im Gegensatz zur Luftatmung für alle Gasaustauschorgane im Wasser ein besonderer Apparat zur Bewegung des Atmungsmediums aus diesen Gründen charakteristisch ist.

Die Bedingungen für einen Gasaustausch auf dem Wege der Diffusion sind bei diesem Wasserröhrensystem der Schwämme recht günstig. Infolge der sehr feinen Verzweigung der wasserführenden Kanäle ist die so gebildete innere Oberfläche und damit die Diffusionsfläche groß, nach PÜTTER (1914) kommt auf 1 ccm Schwammsubstanz etwa 100 qcm innere Oberfläche. Der Diffusionsweg ist kurz, da, wie schon erwähnt, die Wasserkanäle in der Nähe fast aller Zellen vorbeiziehen. Und schließlich ist die Geschwindigkeit des Wasserstromes im größten Teile des Kanalsystems (in den Geißelkammern und in den zu- und abführenden Kanälen) eine ziemlich geringe (nach BIDDER 1923 etwa 50μ pro Sekunde, s. auch unten). Immerhin ist hierbei zu beachten, daß es sich bei den Schwämmen um sogenannte „Partikelfresser“ handelt, die dem erzeugten Wasserstrom durch Filtration Nahrungspartikel und nebenbei auch den O_2 entnehmen; die durch den Körper gepumpten Wassermengen werden im wesentlichen durch das Nahrungsbedürfnis, nicht durch das Sauerstoffbedürfnis beherrscht (HAZELHOFF 1938). Es wird viel mehr Wasser verpumpt, als für die Sauerstoffaufnahme nötig wäre. Die prozentuale Ausnutzung des O_2 (d. h. der Unterschied zwischen dem Sauerstoffgehalt des ein- und ausströmenden Wassers, ausgedrückt in Prozenten des Sauerstoffgehaltes des einströmenden Wassers) ist daher bei den Schwämmen mit im Mittel 19%¹ im Verhältnis zu der Sauerstoffausnutzung nicht-partikelfressender Tiere, bei denen der Wasserstrom *nur* zur Sauerstoffaufnahme dient, mit im Mittel 53% niedrig. Im Verhältnis zu anderen Partikelfressern ist die Sauerstoffausnutzung, deren Größe unter der Voraussetzung des gleichen Zweckes des Wasserstromes mit ein Maß für

¹ Im einzelnen betrug die Sauerstoffausnutzung bei *Sycon raphanus* im Mittel 39%, bei *Leucandra aspera* 11%, bei *Leuconia solida* 7%, bei *Chondrosia reniformis* 21%, bei *Suberites domuncula* 15%, bei *Reniera rosea* 6%, bei *Hircinia spec.* 20% und bei *Aplysina aerophoba* 57%.

die Güte des Gasaustauschapparates darstellt, jedoch recht beträchtlich groß (Lamellibranchiaten im Mittel 7%, Ascidien 6%). Und bei Verlangsamung des Wasserstromes (nach mechanischer Reizung und gleichzeitiger Verengung der Oskula) können sogar ganz erstaunlich hohe Ausnutzungswerte (bis zu 90%) zustande kommen. Daneben spielt eine Gasdiffusion durch die äußere Oberfläche, wenn es sich nicht gerade um stark verzweigte Arten handelt, wohl nur eine sehr untergeordnete Rolle.

Wie kommt nun dieser Wasserstrom in dem Kanalsystem zustande? (S. VAN TRIGT 1919, BIDDER 1923 und 1929; ARNDT 1930; die älteren Anschauungen und Literatur s. besonders BABÁK 1921.) Das Wasser tritt durch eine außerordentlich große Zahl sehr kleiner Öffnungen (Poren) an der Schwammoberfläche ein und gelangt in einem sich stark verzweigenden Kapillarsystem (von schließlich nur noch 8μ Durchmesser bei manchen Poriferenarten) in kleine becherförmige Kammern (Geißelkammern). Durch Bewegung der Geißeln der 100—200 Geißelzellen (Kragenzellen, Choanozyten) in jeder Kammer wird das Wasser auf dem beschriebenen Wege angesaugt und in efferente Kanäle gedrückt, die sich zu größeren Röhren vereinigen und schließlich in die Kloake münden. Diese steht durch eine oder mehrere große runde Öffnungen (Oskula) mit dem umgebenden Wasser in Verbindung. Die Bewegung der Geißeln ist wellenförmig, spiralig; von der Basis zur Spitze der Geißel verlaufen Wellen kleiner Amplitude in rascher Folge. Die Schlagzahl beträgt bei den daraufhin untersuchten Arten (*Grantia compressa*, *Leucandra aspera*) 15—20 pro Sekunde. Im Gegensatz zu der alten Annahme einer umrührenden Wirbelbewegung in den Kammern (s. BABÁK) entsteht nach v. TRIGT auf diese Weise ein Wasserstrom, der von der Geißelbasis nach deren Spitze in der Achse der Geißelspirale und damit nach der Mitte der Kammer gerichtet ist, während das Wasser seitlich an die Basis der Zellen herangesaugt wird. Durch die Lage und Stellung der Geißelzellen (Geißeln nach den abführenden Kanälen zu gerichtet, die Spitzen der Geißeln zum Teil in diesen Kanälen, Basis der Zellen an der den efferenten Kanälen abgewandten Seite der Kammern) und durch die Lage und Größe der zu- und abführenden Kanäle (zuführende Poren eng und an der Seite der Geißelzellen, Ausflußöffnungen weit und gegenüberliegend) wird die immer gleichbleibende Richtung des Wasserstromes (PARKER 1914) durch den Schwammkörper trotz des Fehlens irgendeiner Koordination der Geißeln untereinander gewährleistet. Die Kammerwände werden durch das in die Kammer infolge der Geißelbewegungen angesaugte Wasser gedehnt und so das Wasser unter Druck gesetzt. Von v. TRIGT werden dabei 3 Druckzonen in den Kammern unterschieden, die die Wasserbewegung bewirken: 1. Zone des negativen Druckes (besser Zone der Saugwirkung) um den Zellkörper der Choanozyten und in der Nähe der Einflußpori; 2. Zone des steigenden Druckes bei den Geißeln; 3. Zone des positiven Wasserdruckes im Zentrum und bei den Ausflußöffnungen.

Die Leistungen dieses hydraulischen Systems sind recht beträchtlich. Die Wasserbewegung selbst kann durch Einstreuen von unschädlichen Farbstoffpulvern (z. B. Nilblausulfat) in die Nähe des Schwammes oder durch Injektion von Farblösungen in die Kloakenhöhle sichtbar gemacht werden (BIDDER 1923, ARNDT 1938). Während die durch die Ansaugwirkung des hydraulischen Systems verursachte Strömung infolge der Vielzahl der Dermalporen kaum erkennbar ist (bei *Leucandra* 30 μ pro Sekunde nach BIDDER 1929, s. auch ARNDT 1938), betrug z. B. die Geschwindigkeit des aus einem Oskulum (von 0,031 qcm Fläche) ausgeworfenen Wasserstrahles bei einem Exemplar des sack- oder schlauchförmigen Kalkschwammes (*Leucandra aspera*) von 7,1 cm Länge 7—8,5 cm pro Sekunde (BIDDER 1923), das sind 0,26 ccm Wasser pro Sekunde (= 22,5 Liter pro Tag); der Wasserdruck in den Geißelkammern betrug 0,6—5 mm, in den Oskula 2—4 mm Seewasser¹. Die Länge des Oskularwasserstrahles war bei diesem Schwamm bei ruhigem Wasser 25—51 cm lang, bei *Halichondria panicea* 4—5 cm, bei *Ephydatia fluviatilis* 12 cm lang (BIDDER 1933). Eine *Spinosella sororia*-Kolonie von 20 Röhren soll 1575 Liter pro Tag gefördert haben (PARKER 1910); durch ein annähernd kugelförmiges Exemplar von *Suberites domuncula* mit einem Volumen von 60 ccm wurden nach PÜTTER (1910) 12 Liter Wasser pro Tag durchgetrieben; eine *Spongilla lacustris* mit einem Volumen von 3 ccm filtrierte in 3 Tagen 3 Liter trüben Wassers völlig klar (v. TRIGT). ARNDT (1938) beobachtete bei einem etwa kleinpapfelgroßen Süßwasserschwamm von 24 ccm Volumen (*Ochidraspongia rotunda* ARNDT) einen von dem einen Präoskularfeld ausgehenden schräg nach oben gerichteten Oskularstrahl von 10 cm Länge, die beiden anderen Oskularstrahlen kürzer. Unter der Voraussetzung einer gleichmäßigen Ausströmungsgeschwindigkeit und gleichzeitigen Tätigkeit aller 3 Präoskularfelder (was jedoch nicht den tatsächlichen Beobachtungen entspricht) würden 775 ccm am Tage durch den Schwamm strömen.

Diese recht bedeutende Gesamtarbeitsleistung wird verständlich, wenn man bedenkt, daß bei der oben erwähnten *Leucandra aspera* z. B. 2,25 Millionen Geißelkammern dabei mitbeteiligt sind. Diese „Pumpenkammern“ sind in dem Kanalsystem parallel zueinander geschaltet. Der Gesamtquerschnitt des Kanalsystemes ist in der Höhe der Geißelkammern und der zuführenden Kanäle am größten, in der Gegend der Oskula am kleinsten. Dies bedingt, daß trotz der verhältnismäßig hohen Ausfließgeschwindigkeit aus den Oskula die Wasserbewegung in den Geißelkammern und den zuführenden Kanälen für einen ausreichenden Gasaustausch langsam genug ist (s. oben). Nach BIDDER (1923) ist die mittlere Oskulargeschwindigkeit 1700mal so groß als die in den Geißelkammern. Ein Wasserteilchen braucht etwa 1 Sekunde, um an einer Kragenzelle vorbeizufließen.

Besonders für die in wenig bewegtem Wasser lebenden Schwammarten ist andererseits die hohe Oskulargeschwindigkeit von ausschlaggebender Bedeutung. Sie bewirkt, daß das durch den Schwammkörper schon hindurchgegangene Wasser möglichst weit von diesem, in der Regel senkrecht nach oben fortgeschafft wird und stellt neben der im Wasser praktisch überall vorhandenen, wenn auch sehr geringen Strömung

¹ Weitere Angaben über den Druck in den Oskula bei anderen Schwammarten s. PARKER 1914.

einen der Hauptfaktoren dar, der verhindert, daß das ausgenutzte, sauerstoffarme und mit Stoffwechselprodukten beladene Wasser noch einmal in den Schwamm gelangen kann. Als Ersatz strömt dann frisches Wasser von allen Seiten längs des Meeresbodens zu den Poren auf der Schwammoberfläche.

Nach BIDDERS (1923) ist die Länge des Oskularwasserstrahles („Versorgungsdurchmesser“) von der Oskulargeschwindigkeit und dem Oskulumdurchmesser abhängig. Er konnte durch Berechnung bei einigen Schwammarten zeigen, daß der Durchmesser des Oskulums im Verhältnis zur ausgeworfenen Wassermenge gerade derart groß ist, daß das ausgeworfene Wasser am weitesten fortgebracht wird. Auch die Entwicklung der *Olynthus*-form zur *Rhagon*- oder *Sycon*-Form wird von BIDDERS auf die Vorteile zurückgeführt, die dem Schwammkörper aus der Vergrößerung des Versorgungsdurchmessers infolge des Zusammenflusses vieler Einzeloskularstrahlen zu einem gemeinsamen Oskularstrahl entstehen. Bei ebenso großer Masse und Anfangsgeschwindigkeit des *Rhagon*-Strahles wie die der einzelnen *Olynthus*-Strahlen zusammen ist die Reichweite des *Rhagon*-Strahles entsprechend der geringeren Reibung des einen Strahles (gegenüber der Reibung vieler Strahlen) vergrößert.

Außer der Länge des „Versorgungsdurchmessers“ spielt nun noch die Größe des „Versorgungswinkels“, d. i. der Winkel zwischen der Richtung des eingesaugten und des ausgeworfenen Wassers, eine ausschlaggebende Rolle für eine ausreichende Versorgung des Schwammkörpers mit Sauerstoff (und anderer Nahrung). Je größer dieser Winkel ist, desto geringere Möglichkeit besteht, daß schon durch den Schwammkörper hindurchgegangenes Wasser noch einmal angesaugt wird. Bei 180° ist dies völlig ausgeschlossen.

Dieser Winkel beträgt bei sessilen Formen 90° , durch Ausbildung mehr oder weniger langer Stiele kann er auf 110 und mehr Grad vergrößert werden. Der ausgedehnte Lippenrand bei den bekannten Neptunsbecherformen dient zur Trennung des ein- und austretenden Wasserstromes. Der Versorgungswinkel wird schließlich bei gewissen Schwämmen (Fächerchwämme, z. B. *Phakellia*) dadurch 180° , daß sich der Becher nur nach einer Seite hin öffnet: der horizontal austretende Wasserstrahl zieht vorwärts, während der zuführende Strom vom Becherrücken eintritt. Das ausgeworfene Wasser kann, wenn eine Wasserströmung gleichzeitig nur in einer Richtung vorhanden ist, wie es in der Regel am Boden der Meere der Fall ist, niemals zurückkommen. Die Geschwindigkeit und die Reichweite des Oskularstrahles spielen keine Rolle mehr. Bei wechselnder Strömung, z. B. in der Gezeitenzone, konnten Schwämme mit beweglichen Stielen beobachtet werden, die sich auf diese Weise immer mit dem Strom stellten. Ein Rückstrom schon einmal gebrauchten Wassers kann so wirksam vermieden werden.

Interessanterweise ist der hydraulische Apparat bei den *Hexactinelliden* so unentwickelt, daß kein Wasserstrahl aus dem Oskulum ausgeworfen werden kann. Es ist dies bei diesen Tiefseetieren aber auch gar nicht nötig, da — wenigstens nach BIDDERS Unterlagen — in der großen Tiefe das Wasser dauernd in langsamer Strömung in einer Richtung,

von den Polen zum Äquator, begriffen ist. Es genügt für diese Glasschwämme, den Körper in diese Strömung hineinzustellen, um dauernd ungebrauchtes Wasser zu erhalten. Die Geißelzellen haben nur dafür zu sorgen, daß das Wasser wirklich durch den Körper strömt. Diese Schwämme sind nach BIDDER aus diesem Grunde auf die Tiefsee mit ihrer einseitigen Strömung angewiesen.

Die Weite der Oskularöffnungen und auch mancher Kanäle¹ ist, ebenso wie die der Pori (VON LENDENFELD), bei manchen Schwämmen aktiv veränderbar (ANNANDALE 1907, MCNAIR 1923, BIDDER 1929) und scheint ebenso wie die Stärke des Oskularwasserstromes auch in gewisser Beziehung zu dem Sauerstoffgehalt des Mediums zu stehen. So beobachtete PARKER (1910) einen spontanen, wechselnden Verschuß der Oskula. Dieselben schlossen sich ferner wenige Minuten, nachdem der Schwamm bei Ebbe mit Luft in Berührung kam. Bei *Stylotella heliophila* schlossen sich die Oskula 10—12 Minuten nach dem Einsetzen in sauerstoffloses Seewasser, während die Pori sich öffneten und offen blieben. Der Wasserstrom war zuerst verstärkt², und setzte dann aus. Im normalen Seewasser öffneten sich die Oskula wieder nach etwa 15—25 Minuten. In stehendem Wasser erfolgte ein Verschuß, in fließendem eine Öffnung der Oskula („PARKERS reaction“ nach BIDDER 1933). MCNAIR (1923) beobachtete dagegen bei dem in stehendem sowohl wie in lebhaft fließendem Süßwasser lebenden Schwamm *Ephydatia fluviatilis* keine Veränderungen der Oskulaöffnungen bei Änderung der Wasserströmung, wohl aber in fließendem Wasser eine Verkürzung der bei dieser Art sonst im ruhenden Wasser recht langen, fingerförmigen „Schornsteine“ oder „Ausfuhrkamine“ (Oskularmündungen). Möglicherweise haben die langen Kanäle die Bedeutung, im stehenden Wasser das Auswurfwasser möglichst weit nach einer Richtung hin zu befördern, um möglichst jede Wassermischung zu vermeiden, was im fließenden Wasser nicht nötig ist. Auch ARNDT (1938) beobachtete bei *Ochidraspongia rotunda*, daß 5 Tage hindurch 2 Präoskularfelder weit stärker tätig waren als das dritte, am 6. und 7. Tage kehrte sich das Verhältnis um. Die Wasserausstoßung verringerte sich in kleineren Gefäßen und fehlender Durchströmung in sehr kurzer Zeit, schon nach 15 Minuten konnte die Länge des Oskularstrahles von 10 auf 2 cm verkürzt sein, wobei als Ursache die Ansammlung der Stoffwechselprodukte angenommen wird. — Auf mechanische Reizung reagierte *Chondrosia reniformis* mit einer sehr deutlichen Verengung der Expirationsöffnung und mit einer beträchtlichen Verlangsamung des Wasserstromes, wobei, wie oben erwähnt, eine

¹ Über diaphragmaartige, das Lumen verändernde Falten in den Kanälen s. DELAGE und HÉROUARD.

² VON v. TRIGT wird darauf hingewiesen, daß nur der außerhalb des Kragens sich befindende Geißelteil für die Wasserbewegung wirksam ist. Durch Veränderung der Kragenlänge der Geißelzellen (DELAGE und HÉROUARD) steht dem Schwamm daher ein Mittel zur Regulation der Wasserstromstärke zur Verfügung.

beträchtliche Zunahme der Sauerstoffausnutzung des Wasserstromes auftrat (HAZELHOFF 1938). Dabei sei darauf hingewiesen, daß nach VAN DAM (1938) bei den Partikelfressern (z. B. den Lamellibranchiaten) eine Atmungsregulation bei Sauerstoffmangel nur durch eine derartige Erhöhung der Sauerstoffausnutzung zustande kommt, da der Wasserstrom schon an und für sich bei diesen Tieren maximal ist (im Gegensatz zu der bei Atemnot auftretenden Vergrößerung des Ventilationsvolumens anderer Tiere mit schon normalerweise hoher Sauerstoffausnutzung). Es besteht sehr wohl die Möglichkeit, daß auch bei den Schwämmen eine Atmungsregulation durch Veränderung der Sauerstoffausnutzung vorhanden ist.

Es wäre dann noch kurz etwas über das bei einigen Süßwasserschwämmen beobachtete, intrazelluläre Vorkommen von grünen Algen („Zoochlorellen“) im Schwammkörper zu berichten. Nach v. TRIGT (1919), der diese Verhältnisse besonders eingehend bei *Spongilla lacustris* untersucht hat, handelt es sich bei den in den Schwammgeweben und besonders in den Amöbozyten vorkommenden grünen Kugeln um eine *Pleurococcus*-Art, die auch außerhalb des Schwammes freilebend vorkommt und aus dem Schwamm isoliert und gezüchtet werden kann. Farblose Schwämme konnten künstlich mit den Algen infiziert werden. Grüne, am Licht lebende Schwämme werden im Dunkeln farblos; die sich nicht mehr vermehrenden Algen werden von dem Schwamm sehr bald verzehrt. Nach v. TRIGT handelt es sich hier überhaupt nur um einen ersten Übergang eines Ernährungsprozesses in eine Symbiose und auch nur von dem Standpunkt des Schwammes aus. Vorteile für die Algen, die vom Schwamm dauernd gefressen werden, sind bei diesem Zusammenleben nicht vorhanden. Das einzige Argument, daß für das Vorhandensein einer Symbiose angeführt werden kann, ist, daß diese Algen bei Belichtung im Schwammkörper Öl und ein Gas produzieren, das durch den Nachweis lebhafter Bewegungen von Sauerstoff liebenden Bakterien als Sauerstoff identifiziert wurde. Das Entweichen der Gasblasen aus dem Körper von grünen Schwämmen bei Belichtung wurde von BUCK (1895) bei *Spongilla fragilis* und von SCHRÖDER (1930) bei *Spongilla lacustris* und *Heteromeyenia baileyi* beobachtet. Es ist anzunehmen, obwohl direkte Versuche meines Wissens darüber nicht existieren, daß dieser von den Algen bei Belichtung im Schwammkörper selbst gebildete Sauerstoff dem Schwamm zugute kommt und ihn so unabhängiger vom Sauerstoffgehalt des umgebenden Wassers macht. Nach ARNDT und K. SCHRÖDER (schriftliche Mitteilungen) kommen allerdings algenhaltige grüne Schwämme nicht häufiger in stehenden und sauerstoffarmen Gewässern vor als symbiontenfreie Arten. Das einzige, was sich vielleicht an Versuchen für eine Ausnutzung des photosynthetisch durch die Algen gebildeten Sauerstoffes durch den Schwamm anführen ließe, sind Bestimmungen des Sauerstoffverbrauches im Schatten und in der Sonne. So beobachtete PÜTTER (1914) bei dem symbiontenfreien Schwamm *Suberites massa* eine Erhöhung des Sauerstoffverbrauches bei Belichtung, während

DE LAUBENFELS (1932) bei einigen Kiesel Schwämmen (*Iotrochota birotulata*, *Haliclona rubens* und *longleyi*), von denen der letztere sehr wahrscheinlich Algensymbionten enthält, eine beträchtliche Abnahme des Sauerstoffverbrauches (von 0,53 ccm pro Stunde und Kubikzentimeter Schwamm auf 0,002 ccm) feststellen konnte. Der p_{H} -Wert des umgebenden Wassers (als Maßstab des Kohlensäuregehaltes) betrug bei diesen Kiesel Schwämmen in der Sonne am Ende des Versuches 7,8—8,0 gegenüber 7,4 in Schattenversuchen. Möglicherweise ist auch die Entfernung der Atmungskohlensäure der Schwämme durch die Photosynthese der Algen von Vorteil für die Schwämme. Es ist schließlich zu erwähnen, daß die auf den Schalen von sich fortbewegenden Organismen vorkommenden Schwämme (z. B. *Suberites domuncula* auf *Pagurus*) den Atmungsvorteil einer Wasserbewegung ausnützen können.

Auch über das Sauerstoffbedürfnis der Schwämme und die Fähigkeit zu anoxybiontischer Lebensweise ist nicht allzu viel bekannt. Sie kommen viel in sauerstoffreichen Gewässern vor und scheinen im allgemeinen für das Leben in stark sauerstoffarmem Wasser ungeeignet zu sein, obwohl eine Reihe von Formen auch in stehenden und in industriell verunreinigten Gewässern gefunden wurde (OLD 1932). Nach den Untersuchungen von JEWELL (1935) stellt der Sauerstoff- (und auch der Kohlensäure-) gehalt des Wassers keinen für das Vorkommen und die Verbreitung der Süßwasserschwämme wesentlichen Faktor dar. Allerdings soll die Wasserströmung, neben dem Mineralstoffgehalt und dem Gehalt an organischer Substanz, einen wichtigen Einfluß ausüben. Es ist in diesem Zusammenhang noch von Interesse, daß nach MAAS (1892) bei Sauerstoffmangel die negative Phototaxis der schwimmenden Larven vom *Mycale syrinx* unterdrückt wird. Möglicherweise dient diese Reaktion dazu, daß die Anheftung der Larven an Stellen mit nicht zu niedrigem Sauerstoffgehalt erfolgt.

Hymeniacidon caruncula gedeiht nach FISCHER (1929) nur in Wasser mit einem Sauerstoffgehalt bis zu 5,8 mg pro Liter. In kleinen, unbewegten Wassermengen stirbt *Ephydatia fluviatilis* schnell ab, allerdings doch wohl hauptsächlich wegen der Ansammlung giftiger Stoffwechselprodukte (MCNAIR).

Der Gaswechsel selbst wurde von PÜTTER (1914) und HYMAN (1916, 1925) untersucht.

PÜTTER beobachtete mit der WINKLERSCHEN Methode bei *Suberites massa* einen O_2 -Verbrauch von 34,5 mg (= 24,1 ccm) pro Kilogramm Lebendgewicht und Stunde bei 22° C und ähnliche Werte bei *Thethya lyncurium* und *Hippospongia equina*¹. Im Verlauf der Gefangenschaft sanken diese

¹ v. BUDDENBROCK (schriftliche Mitteilung) fand einen O_2 -Verbrauch bei *Suberites domuncula* von 8,7—10,9 ccm O_2 pro Liter Körpervolumen und Stunde, bei *Aplysina aerophoba* von 14,1 ccm O_2 und bei *Leuconia solida* von 57,9 ccm O_2 . Der respiratorische Quotient der untersuchten Arten (*Reniera rosea*, *Chondrosia spec.*, *Suberites domuncula*, *Aplysina aerophoba*) lag, entgegen den Befunden von PÜTTER, normalerweise unter 1 (0,84—1,0).

Werte ab, im Sommer um etwa 2 % täglich. Der O₂-Verbrauch pro Gewichtseinheit war von der absoluten Größe der Schwämme unabhängig (Nichtgültigkeit des sogenannten Oberflächengesetzes der Atmung). Bei herabgesetztem Sauerstoffdruck nahm der Sauerstoffverbrauch ab, er war in reinem Seewasser annähernd proportional der Quadratwurzel aus dem Sauerstoffpartialdruck. Erhöhung des Sauerstoffdruckes ergab keine eindeutigen Veränderungen. Nur bei Vorhandensein größerer Mengen von Stoffwechselendprodukten im Wasser war die Größe des Sauerstoffverbrauches sowohl bei Herabsetzung wie bei Steigerung des Sauerstoffdruckes diesem direkt proportional¹. Frl. HYMAN (1916) beobachtete, daß die bei einer *Suberites*-Art an der Oberseite vorhandenen 1—3 Oskula sich bei Reizung des Schwammes langsam schlossen, und einige Zeit geschlossen blieben. Während dieser Zeit war der Sauerstoffverbrauch stark vermindert, von 2,4—4,18 ccm O₂ pro Stunde auf 1,2—0,6 ccm bei einem Tier von 75 × 30 × 45 mm Größe. Nach Wiederöffnung der Oskula war der O₂-Verbrauch in manchen Fällen, jedoch bei weitem nicht immer, erhöht. Es wird angenommen, daß möglicherweise bei Verschuß der Oskula gleichzeitig eine Verminderung der Zell- und Geißeltätigkeit auftritt, und so eine tatsächliche Abnahme des Sauerstoffverbrauches stattfindet. Die nachträgliche Erhöhung des Sauerstoffverbrauches kann dadurch zustande kommen, daß der Sauerstoff bei gleichbleibendem Verbrauch dem im Schwamm vorhandenen, aber während des Verschlusses nicht gewechselten Wasservolumen entnommen wird, dessen Sauerstoffgehalt also stärker ausgenutzt wird (s. oben), und das erst nach Öffnung der Oskula ausgestoßen wird. Beide Vorgänge sollen in wechselndem Maße vorkommen und die Ergebnisse erklären. Es ist bei der Deutung der Versuchsergebnisse jedoch einmal zu berücksichtigen, daß der Sauerstoffverbrauch der Schwämme vom Sauerstoffdruck des Atmungsmediums abhängig zu sein scheint. Er müßte dann entsprechend der Abnahme der Sauerstoffkonzentration des im Schwamm befindlichen Wassers zurückgehen. Für eine derartige Abhängigkeit spricht z. B. auch die Beobachtung von MOORE und Mitarbeiter (1912), daß der Sauerstoffverbrauch von Schwämmen in länger dauernden Versuchen nicht der Zeit entsprechend größer war als in kurz dauernden Versuchen. Es muß ferner daran gedacht werden, daß es sich bei der nachträglichen Steigerung des Sauerstoffverbrauches auch um eine Erholungsatmung handeln könnte, in der, wie bei vielen anderen Organismen, die während einer anoxybiontischen Periode gebildeten Stoffwechselprodukte nachträglich fortoxydiert werden². Der z. B. bei *Suberites* gefundene hohe respiratorische Quotient von 2,9 (PÜTTER 1911, s. dagegen die oben erwähnten Befunde von v. BUDDENBROCK), wonach also beträchtlich mehr Kohlensäure ausgeschieden als Sauerstoff aufgenommen wird, führte zu der Annahme, daß schon normalerweise neben den oxydativen auch anoxydative Prozesse ablaufen, bei denen Kohlensäure ohne Sauerstoffaufnahme frei wird. — Frl. HYMAN (1925) untersuchte ferner Schwammstücke von *Grantia*; sie fand dabei den Sauerstoffverbrauch und die Kohlensäureabgabe der Stücke aus dem apikalen Schwammteil höher als den der basalen Teile (im Mittel 132 ccm pro

¹ Die Mehraufnahme von O₂ bei Erhöhung des O₂-Druckes ist nach v. BUDDENBROCK (1938) jedoch nur von kurzer Dauer. Der O₂-Verbrauch erreicht sehr bald wieder seinen Normalwert. Diese Mehraufnahme ist, sicher jedenfalls zum Teil, rein physikalisch auf eine vermehrte O₂-Lösung in den Flüssigkeiten des Tierkörpers infolge des erhöhten Druckes zurückzuführen.

² Nach v. BUDDENBROCK (schriftliche Mitteilung) soll allerdings bei den Schwämmen die O₂-Aufnahme in der Erholungsphase nach einer Erstickungsperiode sogar unter der Norm bleiben.

Kilogramm und Stunde gegenüber 106 ccm). Dabei war der Sauerstoffverbrauch im Gegensatz zu den Beobachtungen von PÜTTER um so geringer, je größer die Schwammstücke waren. Dieser Unterschied und auch der in der Höhe des Sauerstoffverbrauches ist möglicherweise durch das Zerschneiden der Schwämme bei den letzteren Versuchen bedingt.

II. Coelenteraten.

Auch den Coelenteraten fehlen Organe, die ausschließlich dem Gasaustausch dienen. Die Gasdiffusion findet überall da statt, wo günstige Vorbedingungen dafür vorhanden sind. Während bei den *Spongiaria* der Atmungssauerstoff zur Hauptsache dem dauernd durch den Körper in dem „hydraulischen System“ hindurchgepumpten Wasser entnommen und die Kohlensäure an dieses abgegeben wird, findet der Gasaustausch bei den meisten Coelenteraten zum mindesten in ebenso großem Maße auch durch die äußere Oberfläche statt. Es wird dies dadurch verständlich, daß bei den Coelenteraten einmal die äußere Oberfläche (im Verhältnis zur Körpermasse) infolge der Körperform (Tentakel, Mundarme usw.) stark vergrößert sein kann, daß durch Ortsveränderungen und Kontraktionen des ganzen Tieres oder einzelner Teile desselben (z. B. Tentakeln), durch Flimmerepithel oder Ruderplättchen das umgebende Wasser dauernd gewechselt werden kann¹, und daß die innere Oberfläche im Gegensatz zu der der Schwämme oft infolge nur geringer Verzweigung des Gastrovaskularsystems klein ist und meist auch nur geringer von frischem Wasser umspült wird.

Im einzelnen ist über die Gasaustauschmöglichkeiten bei den verschiedenen Coelenteraten folgendes zu erwähnen (über weitere Einzelheiten siehe z. B. BABÁK 1921, v. BUDDENBROCK 1924). Bei den Hydrozoen (BROCH 1928) reicht wohl wegen der Kleinheit und Zartheit der einzelnen Polypen und wegen der großen Oberfläche derselben eine einfache Diffusion von der äußeren und inneren Oberfläche in den meisten Fällen aus. Besonders auch die sehr dünne Fußscheibe bei *Hydra* (ebenso wie bei den Actinien) scheint bei Berührung mit dem Luftsauerstoff oder assimilierenden Pflanzenteilen für die O₂-Diffusion sehr geeignet zu sein. (Bei den wenigen Vertretern, die eine ansehnliche Größe erreichen [z. B. *Monocaulus imperator*], finden sich besondere Vergrößerungen der äußeren oder inneren Oberfläche [besondere Radialkanäle] [R. HERTWIG].) Dazu kommen unter Umständen Ortsveränderungen, mehr oder weniger regelmäßige Längen- und Weitenänderungen der Tentakel, mehr oder weniger rhythmische partielle oder totale Kontraktionen des Tierkörpers, die außer zu einer Bewegung des umgebenden Wassers auch zu einer Flüssigkeitsbewegung im Inneren (neben der durch die Geißeln der Entodermzellen hervorgerufenen) führen. So beobachtete HASE (1910) bei Hydren spontane, zum Teil regelmäßige, partielle Kontraktionen (Pulsationen), die nach BEUTLER (1933) besonders auch beim Zurückbringen asphyktischer Tiere in O₂-reiches Wasser auftreten. Im Beginn des O₂-Mangels waren die Tentakel oft zentimeterlang ausgestreckt; die Tiere zogen sich oft rasch zusammen, um sich nach anderer Richtung erneut auszudehnen. — Bei den Hydroidpolypenstöcken, bei denen die

¹ Über die Notwendigkeit einer dauernden Bewegung des Atmungsmediums bei der Wasseratmung s. oben S. 263.

einzelnen Hydranten durch ein System enger und oft verzweigter Röhren von beträchtlicher Länge (Zönosarkröhren, Hydrorhiza) miteinander verbunden sind, kann noch die dauernde Zirkulation der Körperhöhlenflüssigkeit zur Erleichterung des Gasaustausches beitragen (ALLMANN). Diese meist rhythmische Hin- und Herbewegung der Flüssigkeit, die hauptsächlich der Nahrungsverteilung im Stock dient, allerdings auch am ungefütterten Hydranthen zu beobachten ist, wird im wesentlichen durch peristaltische Kontraktionsbewegungen der Hydranthen und wohl nur in geringem Maße durch den Zilienschlag der Entodermzellen hervorgerufen (BEUTLER 1926).

Bei den Siphonophoren (MOSER 1923/25) kommt es durch die fast dauernde Bewegung der Schwimmglocken und auch der Taster und Fangfäden zu einem kontinuierlichen Wechsel des die Kolonie umgebenden Wassers. Der im Inneren, in der Zönosarkröhre, durch die Freßpolypen und die Kontraktion des ganzen Stammes bewegte, die Nahrung verteilende Wasserstrom dient möglicherweise auch Atmungszwecken. Die Somatozyste der Hauptglocke wird von MOSER mit einem gleichzeitig als Herz und Lunge funktionierenden Organ verglichen, da sie das Atemwasser zusammen mit den Nahrungsstoffen, das ihr aus dem Saugmagen durch den wie ein Pumpwerk arbeitenden Stamm zugeführt wird, an die Glocken verteilt.

Es ist hier noch kurz auf das Vorhandensein eines gasgefüllten Hohlraumes (*Pneumatophore*, *Gasflasche*) am oberen Ende des Stammes der Physophoren und bei den Chondrophoren hinzuweisen, dem eine Zeitlang eine Atmungsfunktion zugeschrieben wurde. (Eine kritische Stellungnahme zu der älteren Literatur findet sich bei WINTERSTEIN 1921.) Bei den Gasflaschen der Physophoren handelt es sich um hydrostatische Organe (nach MOSER 1923/25 dagegen mehr um fein reagierende Tastorgane), die entweder das ganze Tier (*Stephanomia*, *Rhizophysa*) oder aber nur das vordere Ende des Stammes (*Agalma*- und *Forskalia*-Arten) tragen, während der hintere Teil durch gallertige Deckstücke schwebend erhalten wird (JACOBS 1937/38). Bei den ersteren findet sich in der Gasflasche ein terminaler, durch einen Sphinkter verschließbarer Porus, durch den Gas bei Kontraktion der muskulösen Pneumatophorenwand (z. B. bei mechanischer Reizung) nach außen abgegeben wird, und der also dem Ductus pneumaticus der Fischschwimmbase entspricht. Das Absinken der Tiere bei bewegter See kommt so zustande. Die Wiederfüllung der Pneumatophoren erfolgt außerordentlich rasch (in $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$ Stunde) durch Gassekretion; JACOBS konnte bei *Stephanomia* unter dem Mikroskop schon wenige Sekunden nach einer künstlichen Gasentleerung in den basalen, als Lufttrichter oder Gasdrüse bezeichneten Teilen der Luftflasche zwischen den Zellen das Auftreten von winzigen, rasch größer werdenden Gasbläschen beobachten. Es soll sich dabei um die Absonderung von reinem Stickstoff handeln. Selbst bei diesen Formen mit terminalem Porus in der Gasflasche konnte eine Aufnahme von atmosphärischer Luft nicht beobachtet werden, so daß die Annahme, daß es sich hier um Luftatmungsorgane handelt, wohl ausgeschlossen werden kann¹; auch bei jungen Tieren ist die erstmalige Gasfüllung der Pneumatophore ohne atmosphärische Luft möglich (WOLTERECK 1905). — Bei den Formen ohne Porus der Gasflasche ist die Gasfüllung und das Erhaltenbleiben des Gases überhaupt nur durch eine Gassekretion denkbar; wie eine Gasentfernung aus diesen geschlossenen Blasen zustande kommt, ist noch unbekannt, möglicherweise genügt das Abdiffundieren in die Umgebung bei fehlender

¹ Es bleibt dabei natürlich die Frage offen, wie weit der in die mit Stickstoff gefüllte Blase aus dem Wasser hineindiffundierende O₂ für die Atmung ausgenutzt werden kann (s. auch Stickstoff als „Empfangsphase“ bei der Lufthülle tauchender Wasserinsekten (v. LEDEBUR 1939).

Sekretion. — Analysen der Gase der geschlossenen Pneumatophore von *Physalia* ergaben nach DE QUATREFAGES etwa 17 % O₂, nach SCHLOESING und RICHARD 15 % O₂ und 1,7 % CO₂. — Bei den Chondrophoren (*Veella*, *Porpitella*) sind komplizierte, mit der Außenluft in Verbindung stehende, konzentrisch angeordnete Luftkammersysteme beschrieben worden, von denen feine, luftgefüllte, chitinige Röhren („Tracheen“) zu einer darunter gelegenen Drüse führen. Auch hier handelt es sich wohl weniger um einen Luftatmungsapparat als um ein hydrostatisches Organ, das mit sezerniertem Gas gefüllt wird (s. WINTERSTEIN 1921, MOSER 1923/25). — In diesem Zusammenhang sei schließlich noch erwähnt, daß die Annahme einer Gassekretion durch die Fußscheibenzellen von *Hydra* (KEPNER und MILLER 1926) von BEUTLER (1933) abgelehnt wird. Die öfters bei Hydren zu beobachtenden Gasblasen an der Fußscheibe rühren immer von einer Berührung mit einem Gasmedium (Luft, O₂ bei der Assimilation der Pflanzen) her. — Auch die von BETHE (1909) als möglich angenommene, aus Vitalfärbungsversuchen geschlossene, aktive CO₂-Ausscheidung bei Medusen ist nach WINTERSTEIN (1921) abzulehnen.

Bei den Medusen der Scyphozoen und Hydrozoen (KRUMBACH 1930) ist sowohl die äußere Oberfläche (durch Tentakel, Randlappen, Mundarme) als auch die innere Oberfläche durch die ziemlich reich verzweigten Kanäle des Gastrovaskularsystems recht beträchtlich vergrößert. Selbst bei stark ausgebildeter Mittelschicht (Mesoglöa) können die Gasdiffusionsverhältnisse noch günstig sein, da diese Schicht wegen ihrer Zellarmut kaum O₂ benötigt und die atmenden Zellen in oberflächlicher, dünner Schicht darüber angeordnet sind (MCCLENDON 1917). Eine Wasserbewegung kommt an der äußeren Oberfläche durch Kontraktion der Tentakel usw., im Inneren durch Flimmerepithel zustande, besonders aber innen und außen durch die rhythmischen Kontraktionen zur Fortbewegung. Durch Tusche oder Karmin können die Wasserströmungen in dem Gastrovaskularsystem, z. B. bei *Aurelia aurita* und *Cyanea capillata*, nachgewiesen werden (WIDMARK nach KRUMBACH 1930): durch die Mundöffnung strömt dauernd Wasser in den Magen, von da durch die radialen Kanäle zur Peripherie des Schirmes, um alsdann umgekehrt, unter Vermeidung des Magens durch die Munddarmrinnen wieder abzufließen. Bei *Cyanea* kommt der zentrifugale Wasserstrom durch die Kontraktion der Muskulatur, das Zurückströmen durch den Wimperschlag in den Höhlen zustande. Auch hier dient der Wasserstrom im wesentlichen Ernährungszwecken (und zwar zur Beförderung und Verteilung der Nahrung) und hat höchstens nebenbei eine Bedeutung für den Gaswechsel. Eine besonders ausgeprägte respiratorische Funktion wurde früher den Peristomtrichtern (Subgenitalhöhlen, Subumbrellarsäckchen) zugesprochen und das ausschließliche Vorkommen von Zooxanthellen in den Subumbrellarsäckchen von *Linuche* in diesem Sinne gedeutet (HAECKEL 1879, THIEL 1929). Nach den Untersuchungen von YONGE und Mitarbeitern (1930/33) über die Bedeutung der Zooxanthellen bei den Madreporen (s. unten) ist wohl auch hier anzunehmen, daß es sich eher um Exkretionsorgane handelt (THIEL 1936). — Die gesamte Oberfläche, das Schlundrohr und die Gastralhöhle der *Polypen* ist mit Wimperzellen bedeckt, deren Schlagrichtung im Schlundrohr je nach Bedarf veränderbar zu sein scheint. Die so erzeugten Wasserströme besitzen sicher nebenbei eine respiratorische Bedeutung.

Zum Teil sehr viel weniger günstig als bei den Scyphozoen liegen die Gasdiffusionsverhältnisse bei den Anthozoen (PAX 1934/36), besonders wegen der oft mächtig entwickelten, zwischen Ekto- und Entoderm gelegenen Mesoglöa (*Actinaria*). Eine Bewegung des die äußere Oberfläche umgebenden Wassers findet auch hier durch Ortsveränderungen der Tiere, Bewegungen und Kontraktionen der Tentakel usw. und besonders durch die Tätigkeit

der Flimmerzellen statt. Diese können den ganzen Körper der Polypen bedecken (*Antipatharia*, einige *Actinaria*) oder aber die Tentakel (*Madreporia*¹) oder mehr oder weniger große Teile des Ektoderms (einige *Actinaria*, *Alcyonaria*, *Gorgonaria*, *Pennatularia*) freilassen. Die Richtung dieses auch wieder im wesentlichen Nahrungszwecken dienenden Wimperstromes kann an den Seitenflächen des Polypen eine verschiedene sein, im Bereich der Mundscheibe und des Schlundrohres oder nur der Schlundrinne (Syphonoglyphe bei *Actinaria*, *Alcyonaria*) ist der Strom jedoch in der Regel nach innen gerichtet. Ein nach außen gerichteter Wasserstrom kommt möglicherweise durch Umkehr der Wimperschlagrichtung oder, wie z. B. bei den *Alcyonarien*, durch die Wimpern der dorsalen Mesenterialfilamente zustande. Die im Inneren dieser Organismen befindliche Flüssigkeit wird außerdem noch durch das Flimmerepithel des Entoderms (besonders auch der Mesenterialfilamente) in Zirkulation gehalten und durch zum Teil rhythmische Kontraktionen erneuert. Diese innere Oberfläche ist durch die Bildung der Septen und Mesenterialfilamente recht beträchtlich vergrößert. Bei Formen mit großem massigem Skelet (*Madreporaria*) und verhältnismäßig kleinen Polypen, deren Mundscheibe noch dazu zum Teil für den Nahrungsfang mit die O₂-Diffusion hemmendem Schleim überzogen ist, sollen die Mesenterien im Inneren des Körpers die Hauptgasaustauschflächen darstellen. Bei den stockbildenden *Anthozoen* hängen die Einzeltiere durch das Zönosark zusammen, das bei den *Octocorallia* besonders stark entwickelt ist und von zahlreichen verästelten und anastomosierenden Entodermkanälchen durchsetzt ist. In diesem, bei den *Gorgonaria* und *Pennatularia* kompliziert gebauten Gastrovascularsystem zirkuliert Seewasser, dessen O₂ sicherlich ausgenutzt wird. — Bei manchen Ordnungen der *Octocorallia* (*Alcyonaria*, *Gorgonaria*, *Pennatularia*) finden sich 2 verschiedene Polypenarten, Autozooiden und Siphonozooide (= Zooide), von denen die letzteren vornehmlich der Wasserzirkulation und der Aufnahme und Abgabe des Wassers dienen. Bei den *Alcyonaria* besorgen die Siphonozooide mit ihrer stark entwickelten Schlundrinne die Wasserzufuhr und Zirkulation. Auch bei den *Pennatularia* ist diese innere, vom Wasserstrom berührte Oberfläche um ein Vielfaches größer als die gesamte äußere Oberfläche, der Gasaustausch wird daher im wesentlichen im Inneren stattfinden. Nach PAX spricht die beträchtliche Zahl der zur Nahrungsaufnahme sonst nicht fähigen Zooide dieser Anthozoen für die Bedeutung des inneren Wasserstromes für die Atmung.

Auch bei den *Ctenophoren* (KRUMBACH 1923/27) mit ihrer mächtig entwickelten, mesenchymatischen Mittelschicht und ihrer im Verhältnis dazu geringen äußeren Oberfläche spielt der Gasaustausch durch die innere Oberfläche sicher eine wesentliche Rolle. In dieser Zwischenschicht findet sich nämlich ein vom Magen ausgehendes, reich verzweigtes Entodermkanalsystem, durch welches Seewasser mit der im Schlund gelösten Nahrung durch die Kontraktionen des Tieres, durch die Ortsbewegungen mit der Mundöffnung voran, besonders aber auch durch das Schlagen der Wimpern des Flimmerepithels (GEMILL 1918) getrieben wird. An und für sich sind die Bedingungen für einen Gasaustausch jedoch auch an der äußeren Oberfläche wegen der dauernden Wasserbewegung infolge des Umherschwimmens und der Tätigkeit der Ruderplättchen und der Flimmerrinnen nicht ungünstig.

Bei dieser Aufzählung handelt es sich jedoch nur um Hinweise, wo und auf welche Weise ein Gasaustausch möglicherweise stattfinden kann,

¹ Genaue Angaben über die durch Flimmerbewegungen ausgelösten Wasserströmungen bei Madreporen s. bei CARLGREN 1905, YONGE 1930.

und wo nach unseren heutigen Kenntnissen die günstigsten Bedingungen dafür vorhanden sind. Diese Hinweise werden zum Teil durch Beobachtungen unterstützt, wie z. B. das Vorhandensein der Flimmerströme, der rhythmischen Flüssigkeitsbewegungen im Zönosark von Hydroidpolypenstöcken, auch wenn keine Nahrung aufgenommen oder weiter zu befördern ist (BEUTLER 1926), das Auftreten rhythmischer Tentakelbewegungen der Anthozoe *Xenia* in Tümpeln, die während der Ebbe stehen bleiben und sich dabei stark erwärmen (HAACKE 1886) usw. Eine eindeutige Bestätigung für eine Atmungsfunktion der beobachteten Bewegungen, Wasserbewegungen usw. ist bis jetzt jedoch, wenn überhaupt, nur in wenigen Fällen gelungen. Es ist vielmehr darauf hinzuweisen, daß eine Atmungsregulation im Sinne einer Tätigkeitszunahme der verschiedenen, die Wasserströmungen hervorrufenden Mechanismen bei verschlechterten Atmungsbedingungen in der Regel nicht nachweisbar gewesen ist. Die bei *Hydra* in regelmäßigen Zeitabständen zu beobachtenden, am Körper entlang laufenden Anschwellungen (HASE 1910) werden bei O_2 -Mangel nicht verstärkt (BABÁK; s. dagegen BEUTLER 1923). Die Pulsationen der Schwimmglocken der Siphonophoren, die rhythmischen Kontraktionen der Medusen usw. stehen in keiner direkten Beziehung zu einer Atmungsregulation: die Pulsationsfrequenz von *Aurelia aurita* bleibt bei absinkendem O_2 -Druck, auch wenn der O_2 -Verbrauch schon abnimmt (s. unten), unverändert; bei einem O_2 -Gehalt von 1 ccm pro Liter werden die Pulsationen langsamer, um dann bei 0,1 ccm pro Liter aufzuhören (THILL) [s. auch das Aufhören der Bewegungen von *Rhizostoma pulmo* in O_2 -freiem Wasser (BAGLIONI 1905, WINTERSTEIN 1905)]. Bei Erhöhung des O_2 -Druckes sollen die Pulsationen sogar beschleunigt sein (ROMANES nach BABÁK). Dagegen kann durch schwache Kohlensäure- (oder Säure-)konzentrationen eine Beschleunigung der Medusenpulsationen, besonders bei *Carmarina* und *Olindias*, aber auch bei *Rhizostoma*, hervorgebracht werden (BETHE 1909; s. dagegen WINTERSTEIN 1905). Dasselbe gilt nach THILL (1937) bei *Aurelia* jedoch auch für die Erhöhung der OH-Ionenkonzentration (die bei *Rhizostoma* nach BETHE aber eine Verlangsamung des Rhythmus herbeiführt). Die Organismen können so aus dem Bereich nicht normal zusammengesetzten Seewassers herausgeführt werden, wie z. B. auch bei den gegen Umweltreize sehr empfindlichen Siphonophoren O_2 -Mangel zu einer Kontraktion und Fluchtreaktion Anlaß geben soll (MOSER 1923/25). Bei größeren Abweichungen vom normalen p_H -Wert (nach beiden Richtungen) kommt es zu einer Abnahme bzw. Stillstand der Schlagfrequenz (THILL). Auch über eine Anpassung der Geschwindigkeit der Wasserbewegungen durch Wimperströme oder Ruderplättchen an die Atmungsbedingungen der betreffenden Organismen ist bis jetzt nichts bekannt geworden.

Eine Atmungsregulation dieser Art, und besonders eine weitgehende Regulation, ist jedoch auch bei den Coelenteraten kaum zu erwarten. Denn einmal handelt es sich bei ihnen, ähnlich wie bei den Schwämmen,

um Tiere, bei denen diese Wasserströmungen hauptsächlich im Dienste der Nahrungsaufnahme bzw. Nahrungsverteilung stehen. Es ist möglich, daß auch hier dieser Wasserstrom schon maximal ist und eine vermehrte O_2 -Aufnahme nur durch eine vermehrte Ausnutzung des O_2 dieses Wasserstromes zustande kommen kann, was bis jetzt jedoch, ebenso wie der Grad der O_2 -Ausnutzung des Wassers überhaupt, noch nicht untersucht worden ist. Und dann finden sich unter den Coelenteraten, besonders den massigen Formen, Organismen, deren weitgehende Abhängigkeit des O_2 -Verbrauches vom O_2 -Druck¹ (s. unten) nur eine geringe Fähigkeit der Atmungsregulation vermuten läßt (s. auch HARNISCH 1932), die außerdem auf einem ganz andersartigen Prinzip zu beruhen scheint.

Bei einer ganzen Reihe von Anthozoen, so z. B. bei *Alcyonarien*, *Gorgonarien*, kann man nämlich bei O_2 -Mangel [z. B. Abstellung der Aquariendurchlüftung (MATTHEWS 1916)] eine besonders starke Ausdehnung der Polypen und ein Anschwellen durch Wasseraufnahme (z. B. *Alcyonaria*) beobachten, eine Tatsache, die schon seit langem als Kunstgriff zur Fixation gut ausgebreiteter Polypen angewandt wird (KÜKENTHAL 1909). Auch bei *Hydra* konnte BEUTLER (1933) kurz vor der Erstickung ein Stadium beobachten, in dem die Tiere maximal ausgestreckt waren und lebhaftere Bewegungen zeigten (s. auch WELCH und LOOMIS 1924). Es kommt so zu einer Diffusionserleichterung infolge der beträchtlichen Vergrößerung der Oberfläche und der damit verbundenen Abnahme der Dicke der Gewebsschichten. Bei Alcyonarien beobachtete z. B. CARY (1918) eine Oberflächenvergrößerung durch Expansion auf das 1,25—3,25fache. PETRIK (1931) konnte zeigen (s. dagegen HENZE 1910, und auch CARY 1918), daß es sich dabei um einen Regulationsmechanismus handelt, bei dem die O_2 -Aufnahme nach dem O_2 -Bedürfnis durch diese aktive Vergrößerung der Diffusionsfläche geregelt wird: der O_2 -Verbrauch war bei einer ausgestreckten Actinie (*Metridium marginatum*) etwa 10mal so groß als bei einem zusammengezogenen Tier; den beobachteten rhythmischen Änderungen des O_2 -Verbrauches gingen immer Änderungen in der Größe und der Ausdehnung der betreffenden Tiere parallel. Auch nach einer Nahrungsaufnahme war z. B. längere Zeit bei gleichzeitiger Ausdehnung der Tentakel der O_2 -Verbrauch erhöht. Durch Kontraktion der Tentakel und des ganzen Körpers können diese Tiere umgekehrt ihren O_2 -Verbrauch stark einschränken, was schon von PIÉRON (1908)

¹ Nach TRENDELENBURG (1909) stellt diese Abhängigkeit des O_2 -Verbrauches vom O_2 -Gehalt jedoch, z. B. bei den Actinien, eine wichtige Anpassung an ein Leben in einem Wasser mit stark veränderlichem O_2 -Gehalt dar; zu derselben Schlußfolgerung kommen auch YONGE u. a. (1932) für die Madreporen. Die Möglichkeit, daß dabei anoxydative Prozesse (s. unten) ablaufen, wird nicht in Betracht gezogen. Auch McCLENDON (1917), der bei *Cassiopea* bei völligem O_2 -Mangel die Abgabe von CO_2 oder Säuren vermehrte, nimmt ein Sistieren der Stoffwechselfvorgänge unter diesen Umständen an. (Über gewisse Einwände gegen eine derartige Atmungsregulation s. v. LEDEBUR 1939.)

nachgewiesen wurde; sie scheinen bei ungünstigen Lebensbedingungen [nach PIÉRON (1908) hauptsächlich bei O₂-Armut der Umgebung, aber auch bei Wasserbewegungen] davon Gebrauch zu machen. Sie umgeben sich nach vollständiger Kontraktion mit einer Schleimhülle und können so nach Übergang in einen Ruhezustand längere Zeit einen O₂-Mangel aushalten (s. auch BABÁK, WINTERSTEIN). Dieser zum Teil sogar rhythmisch ablaufende Wechsel zwischen Expansion und Kontraktion scheint jedoch in weit größerem Maße als vom O₂-Gehalt der Umgebung noch von anderen Faktoren, so besonders auch von den Belichtungsverhältnissen und mechanischen Einflüssen abhängig zu sein (BOHN 1908, WINTERSTEIN 1921); jedenfalls werden von BOHN, der Actinien noch in sehr O₂-armem Wasser (1—2 mg pro Liter) stark expandiert beobachtete, die andersartigen Versuchsergebnisse von PIÉRON darauf zurückgeführt. Ein Tagesrhythmus mit Expansion am Tage und Kontraktion bei Nacht soll besonders bei Actinien scharf ausgeprägt sein, die Zooxanthellen (s. unten) im Entoderm enthalten (z. B. *Anemonia sulcata*); ein umgekehrter Rhythmus soll sich bei algenfreien Tieren finden (PAX 1936). An der Luft (z. B. bei Ebbe) kommt es, wohl infolge des Austrocknungsreizes, zur Kontraktion (*Actinia equina*) (BOHN 1908); kontrahierte Actinien kann man zu besonders guter Entfaltung bringen, wenn man sie einige Stunden der Luft aussetzt und sie dann wieder ins Wasser zurückbringt. Es ist dies vielleicht darauf zurückzuführen, daß es im kontrahierten Zustande zu einer Ansammlung irgendwie schädlicher anoxydativer Stoffwechselprodukte kommt, die nach Eintreten wieder günstiger Atmungsbedingungen möglichst rasch (daher maximale Oberflächenvergrößerung!) fortoxydiert werden. — Es sei in diesem Zusammenhange erwähnt, daß THILL bei hungernden Medusen (*Aurelia aurita*) eine gleichzeitige Abnahme des O₂-Verbrauches und des Volumens beobachtete.

Bei Aktinien und Hydren konnte ferner ein aktives Verlassen O₂-armer Biotope und ein Aufsuchen O₂-reicherer Gegenden, also eine Oxygenotaxis nachgewiesen werden. PIÉRON (1908) beobachtete, daß Actinien bei O₂-Mangel zur Wasseroberfläche kommen und entweder dort ihren dünnwandigen Fuß ausbreiten (*Tealia felina*) oder zur Hälfte, bei feuchter Luft auch ganz, aus dem Wasser herauskriechen (*Actinia equina*), also zur Luftatmung übergehen, wobei in letzterem Falle der benötigte O₂ gänzlich der Luft entnommen wird. Sehr eingehend ist dann neuerdings die schon von WILSON (1894) beobachtete Aerotaxis von *Hydra* durch BEUTLER (1933) untersucht worden (s. dort auch ältere Literatur). Frl. BEUTLER konnte zeigen, daß braune Hydren die O₂-reichsten Orte aufsuchen, nämlich die Wasseroberfläche, an der sie sich mit ihrem dünnwandigen Fuß aufhängen, oder auch, am Tage, grüne Wasserpflanzen. Im Dunkeln werden die Wasserpflanzen dagegen gemieden (s. auch PIÉRON 1908). Es handelt sich bei dieser Reaktion um eine echte Oxygenotaxis. So konnte eine noch von HAASE-EICHLER (1931) angenommene, bei O₂-Mangel oder CO₂-Anreicherung auftretende negative

Geotaxis, eine negative Chemotaxis gegen Stoffwechselprodukte (besonders auch CO_2) und eine einfache Fluchtreaktion infolge O_2 -Mangels ausgeschlossen werden. Die Tiere, die direkt dem O_2 -Konzentrationsgefälle entgegen wandern, müssen eine, bis jetzt allerdings unbekannte, Art der Wahrnehmung des O_2 -Gehaltes der Umgebung besitzen.

Es ist dabei von Interesse, daß die Hydren an und für sich gar nicht einmal so empfindlich gegen O_2 -Mangel sind und durch ihn nicht leicht geschädigt werden. Irreversible Schädigungen treten erst ein, wenn der O_2 -Gehalt des Wassers sehr niedrige Werte erreicht hat oder sogar ganz verschwunden ist (BEUTLER), nach WELCH und LOOMIS (1924) kann sogar eine mehrstündige Anoxybiose (etwa 12 Stunden) überstanden werden. Im ganzen sind die Anforderungen an die Höhe des O_2 -Gehaltes und die Breite der Anpassung an Veränderungen desselben bei den Coelenteraten sehr unterschiedlich.

Hydra vulgaris benötigt für ein gutes Gedeihen durchlüftetes Wasser, *Hydra attenuata* verträgt dagegen auch faulendes Wasser (HAASE-EICHLER 1931); *Hydra oligactis* kommt im Freien selten bei einem niedrigeren O_2 -Gehalt als 0,2—0,3 ccm pro Liter vor (WELCH und LOOMIS 1924). *Actinia equina* scheint gegen O_2 -Mangel wenig empfindlich zu sein, sie wurde noch in Wasser mit nur 0,6 mg O_2 pro Liter lebend gefunden (PIÉRON 1908). Das Vorkommen einzelner Aktinienarten in leicht bis mäßig verunreinigtem Wasser, mit einem daher wohl auch verschieden hohen O_2 -Gehalt, kann nach WILHELM (1912) direkt als Indikator für den Verschmutzungsgrad des betreffenden Wassers benutzt werden. *Actinia bermudensis* überlebte in einer abgeschlossenen Wassermenge 5—6 Tage, in der Echinodermen, Ascidien und auch die Koralle *Isophylla* nur $\frac{1}{2}$ —1 Tag am Leben blieben (FOULTON 1921). Während einige Actinienarten (wie z. B. *Sagartia troglodytes*, *Diadumene luciae*) auch ohne jede Durchlüftung in Aquarien gehalten werden können, beanspruchen andere Arten (*Tealia felina*, *Metridium senile*, *Actinothoe anguicornis*) stark O_2 -haltiges Wasser. Von Korallen verlangen *Acropora*, *Orbicella* und *Porites* reines Wasser, während andere Arten, wie z. B. *Favia*, *Maeandra*, *Siderastrea*, auch in schlammigem Wasser vorkommen, in dem sie bei reduziertem Stoffwechsel überleben sollen (MAYER 1918). Eine ganze Anzahl von Actinienarten zeigt ihr starkes O_2 -Bedürfnis durch Ansiedelung auf kriechenden oder schwimmenden Tieren, in der Nähe von strömendem Wasser [Aquarienzufluß, Siphon von *Mya* (PIÉRON 1926), Oberfläche von Schwämmen, Kiemengegend von *Scorpaena* (HOVASSE 1930) usw.]. Die Ortsbewegung scheint für die auf der Gephyree *Aspidosiphon* lebende Madrepora *Heteropsammia cochlea* sogar lebensnotwendig zu sein (BOUVIER nach BABÁK). Steinkorallen können (auch im Dunkeln) zum Teil beträchtlich lange bei Anwesenheit von nur Spuren von O_2 überleben: in fast O_2 -freiem Wasser starben die während der Ebbe oft dem Trockenem ausgesetzten Arten *Cyphastrea* am 4. Tage und *Porites* erst am Ende des 6. Tages; *Galaxea* und *Fungia* gingen dagegen schon nach 1—2 Tagen ein (YONGE u. a. 1932, s. auch MAYER 1918). — Bei dem Hydroidpolypen *Cordylophora caspia* konnte ROCH (1924) feststellen, daß das O_2 -Bedürfnis dieses Tieres um so höher ist, je geringer der Salzgehalt des Wassers ist: im Süßwasser kommt *Cordylophora* nur in stark strömendem Wasser vor, im Brackwasser jedoch auch im stagnierenden Wasser (über das Problem der Atmung in Süß- und Seewasser s. v. LEDEBUR 1939). — Einen besonderen Einfluß der O_2 -Diffusionsgröße bei *Tubularia* beobachtete BARTH (1938). Die Größe der Hydranthenknospen, die Regenerationszeit und -häufigkeit war direkt vom O_2 -Druck

abhängig; unterhalb von 4,5 ccm pro Liter trat eine Erniedrigung der genannten Werte ein, unterhalb von 1 ccm pro Liter unterblieb jegliche Regeneration, obwohl die Stammstückchen dabei noch nicht abgetötet wurden.

Medusen scheinen, wofür ja auch schon ihre zum Teil planktonische Lebensweise in den obersten Wasserschichten spricht, meist ziemlich O_2 -bedürftig zu sein (KRUMBACH 1930). *Rhizostoma* hält ein Fehlen des O_2 nicht aus, bei einem O_2 -Gehalt von 0,3—0,4 ccm pro Liter (bei 12°) hören die Kontraktionen auf (WINTERSTEIN, BAGLIONI), *Eleutheria dichotoma* soll dagegen 12 Stunden ohne O_2 auskommen (DRZEWINA und BOHN 1911). Und auch *Aurelia* besitzt wohl infolge ihrer ziemlich weitgehenden Unabhängigkeit vom p_H -Wert und O_2 -Gehalt des Wassers die Möglichkeit, jedenfalls vorübergehend sich in O_2 -ärmeren Biotopen aufzuhalten (THILL). Kleinere Medusen stellten ihre Tätigkeit erst bei niedrigeren O_2 -Drucken ein als größere, was von WINTERSTEIN (1905) auf eine leichtere Gasdiffusion infolge größerer Zartheit der Gewebe zurückgeführt wird.

Die Fähigkeit der anoxybiontischen Energiegewinnung ist also sicherlich bei vielen Coelenteraten, wenn auch in verschiedenem Ausmaße, vorhanden. Dafür spricht ferner, daß besonders bei massigen Tieren [z. B. bei Actinien (HENZE 1910), bei der Scyphozoe *Cassiopea xamachana* (McCLENDON 1917), bei der Madrepora *Pocillopora* (MAYER 1924)] der O_2 -Verbrauch vom O_2 -Druck der Umgebung fast geradlinig abhängig ist und zum Teil selbst in luftgesättigtem Wasser noch nicht seine maximale Höhe erreicht hat. So brauchte eine *Anemonia sulcata* im Dunkeln in gewöhnlichem Seewasser 6 ccm O_2 in $5\frac{1}{4}$ Stunden, in Wasser mit einem 3fach höheren O_2 -Gehalt unter den gleichen Bedingungen dagegen 15 ccm (TRENDELENBURG 1909). Diese Zunahme der O_2 -Aufnahme bei Erhöhung des O_2 -Druckes ist bei den Actinien (*Anemone sulcata*) nicht von vorübergehender Art wie bei vielen anderen Organismen, sondern scheint so lange bestehen zu bleiben, wie der erhöhte O_2 -Druck anhält (v. BUDDENBROCK 1938). Diese Abhängigkeit ist durch den außerordentlich langen Diffusionsweg für den O_2 bei diesen Actinien (z. B. *Actinia equina*, *Metridium dianthus*) und nicht etwa durch eine fehlende Autonomie der einzelnen Zelle gegenüber dem O_2 bedingt, wie die Versuche von HARNISCH 1932 ergaben: Verkürzung dieses Weges durch feine Zerkleinerung der Gewebe hebt die Abhängigkeit völlig oder jedenfalls weitgehend auf. Schon bei den günstigsten O_2 -Verhältnissen in der Natur werden also beträchtliche Teile des Körpers nicht mit genügend O_2 versorgt, so daß selbst unter diesen Bedingungen schon ein gleichzeitiges Vorhandensein oxybiontischer und anoxybiontischer Prozesse angenommen werden muß (HENZE 1910, v. BRAND 1934). Es wird dabei von v. BRAND darauf hingewiesen, ob nicht möglicherweise die weitgehenden Variationen der O_2 -Aufnahme (bei gleichem O_2 -Druck), die von PETRIK bei Actinien beobachtet wurden (s. oben), auf ein wechselndes Verhältnis in der Größe dieser beiden Prozesse zurückführbar ist. — Zu etwas

anderen Ergebnissen gelangte KRAMER (1937) bei der Untersuchung des Stoffwechsels der isolierten, im Verhältnis zum Körper sehr dünnwandigen Tentakel von *Anemonia sulcata*. Er stellte einmal, bei einem RQ. von 0,9, einen etwa 4mal so großen O₂-Verbrauch (pro Gewichtseinheit), wie er von anderen Autoren am ganzen Tier gemessen wurde, fest (s. Tabelle). Aus Anaerobioseversuchen schloß er ferner, daß die Energieproduktion der Tentakel dann auf wenige Prozent der aeroben Energiemenge gedrosselt ist; die Tentakel besitzen nur ein sehr geringes Vermögen, bei fehlendem O₂ durch Spaltungsprozesse Energie zu gewinnen. Es wird jedoch die Möglichkeit offengelassen, daß die dickfleischigen Teile ein stärkeres glykolytisches Vermögen besitzen. — Auch bei der Meduse *Aurelia* muß bei absinkendem O₂-Druck das Vorhandensein eines Spaltungsstoffwechsels angenommen werden. Dafür sprechen die unverändert ablaufenden Lebensäußerungen, der nach einer Anoxybiose auftretende stark erhöhte O₂-Verbrauch (Erholungsatmung) und die gegenüber der Norm erhöhte Volumabnahme (stärkerer Verbrauch organischer Substanzen wegen der unrationelleren Energiegewinnung). Bei längerer Anoxybiose treten jedoch Schädigungen, krampfartige Kontraktionen auf (THILL).

Über die Natur dieser anoxydativen Prozesse ist nicht viel bekannt: der Glykogenachweis bei Actinien und Hydrozoen (BEUTLER 1926) läßt nach v. BRAND Kohlehydratprozesse vermuten; bei Madreporen wurden dagegen anstatt Glykogen- größere Fettreserven gefunden (YONGE 1931). VERNON fand den RQ. verschiedener Medusen bei O₂-Mangel erhöht, bei *Cassiopea xamachana* war dagegen bei fehlendem O₂ die CO₂-Ausscheidung ganz verschwunden (McCLENDON). KRAMER konnte bei den Tentakeln von Actinien die anaerobe Bildung einer oder mehrerer fixer Säuren feststellen, von denen jedoch höchstens ein Teil, wenn überhaupt etwas, aus Milchsäure bestand. Die anaerob freiwerdende CO₂-Menge konnte durch Glukosezusatz beträchtlich vermehrt werden.

Über die absolute Größe des O₂-Verbrauches gibt am besten die folgende Tabelle Auskunft. Die Atmungsgröße ist, in der üblichen Weise auf das Körpergewicht bezogen, recht niedrig; bei Berücksichtigung des zum Teil sehr beträchtlichen Wassergehaltes der Tiere [über 90%; bei *Aurelia* z. B. 98% (THILL)] stehen diese Werte jedoch denen der O₂-Aufnahme höher stehender Organismen nicht nach (z. B. Frosch mit 450 ccm O₂ pro Kilogramm Trockengewicht und Stunde) (VERNON 1896, KROGH 1916; s. auch v. BUDDENBROCK 1924). Über einen zum Teil sehr verschiedenen hohen O₂-Verbrauch verschiedener Korallen berichtet MAYER (1918, 1924). Da die Menge der lebenden Substanz bei den einzelnen Arten außerordentlich verschieden ist, sind die Angaben jedoch schwer vergleichbar (YONGE u. a. 1932). — Der „minimale stündliche Lebensraum“, d. i. die kleinste Wassermenge, die ein Tier pro Stunde braucht, beträgt bei *Rhizostoma*, auf den O₂-Verbrauch berechnet, das 1,32fache des Tiervolumens (KRUMBACH 1923/25). — Das „Oberflächengesetz“, die Proportionalität zwischen der Atemgröße und der Größe der Tieroberfläche, scheint auch für die Coelenteraten gültig zu sein: jedenfalls

Tabelle. Sauerstoffverbrauch einiger Coelenteraten.

Tierart	Gewicht in g	Versuchs- temp. in °	Sauerstoffverbrauch in ccm pro			Autor
			Tier und Std.	kg und Std.	kg Trockengew. und Std.	
Anthozoa:						
<i>Anemonia sulcata</i>	120	18		13,4		V. BUDDEN- BROCK 1924
<i>Anemonia sulcata</i>	120	18	1,52	12,7	100	Tab. biol. III.
<i>Anemonia sulcata</i> (Tentakel allein)		25			1000	KRAMER
<i>Anemonia sulcata</i> (ganzes Tier)		25			210—290	KRAMER (nach Werten von PÜTTER und TRENDELEN- BURG)
Hornkorallen (<i>Alcyonaria</i>)				13,9—74,6 ¹		CARY (1918)
Steinkorallen						
<i>Siderastrea radians</i>				25 ¹		MAYER 1918
<i>Maeandra areolata</i>				95 ¹		" "
<i>Acropora muricata</i>				467 ¹		" "
Medusen:						
<i>Aurelia aurita</i> . .	20-200	13 bis 17		5—3,4	1851—1259	THILL
<i>Carmarina hastata</i>		16	0,094-0,028	4,24	1410	Tab. biol. III.
<i>Carmarina hastata</i>	30	20		7,7	2025	McCLENDON
<i>Cassiopea xama- chana</i>	100	20		12,5	1040	McCLENDON
<i>Rhizostoma pulmo</i>	232	26	3,56	15,3	1356	KRUMBACH
<i>Rhizostoma pulmo</i>		16	0,669	7,98	1560	Tab. biol. III.
Ctenophoren:						
<i>Beroe ovata</i> . . .		16	0,122	5,11	930	Tab. biol. III.
<i>Cestus veneris</i> . .		20		2,94	2420	KRUMBACH
<i>Cestus veneris</i> . .	70	20		3,75	1562	McCLENDON

¹ Umgerechnet auf 1 kg *lebenden* Gewebes (nach Abzug der Skelet-
substanzen).

besitzen kleine Medusen, kleine Ctenophoren in der Regel einen höheren O₂-Verbrauch, pro Kilogramm Körpergewicht berechnet, als größere Tiere (VERNON 1896, McCLENDON 1917, WINTERSTEIN 1921, KRUMBACH 1923/25). Bei Umrechnung dieser Werte auf den O₂-Verbrauch pro Einheit Tieroberfläche (Multiplikation mit $\sqrt[3]{\text{Gewicht}}$) ergaben sich jedoch nur bei *Beroe ovata* einigermaßen von der Tiergröße unabhängige Werte, bei der noch untersuchten *Carmarina* nahmen dieselben mit der Tiergröße zu, bei *Rhizostoma* und *Cestus* jedoch ab (KROGH 1916). Bei *Aurelia aurita* wurde diese Abhängigkeit der Stoffwechselgröße von

der Tiergröße genau untersucht (THILL). Es ergaben sich dabei folgende Beziehungen:

Einer Tiergröße von	20	40	60	100	200 g
entsprach ein O ₂ -Verbrauch von	5	4,12	3,83	3,6	3,4 ccm O ₂ pro Kilo- gramm und Stunde.

Eine Beziehung zwischen der Menge der Trockensubstanz und dem höheren O₂-Verbrauch der kleineren Tiere konnte jedoch nicht nachgewiesen werden. — Über den Einfluß der Oberfläche auf die Atmungsgröße s. auch oben die Versuche von PETRIK.

Über den Einfluß des O₂-Druckes auf die Atmungsgröße wurde oben schon berichtet. Dem ist noch hinzuzufügen, daß bei zarthäutigen Coelenteraten, z. B. Medusen (s. oben) und auch Ctenophoren (KRUMBACH), allgemein angenommen wird, daß ihr O₂-Verbrauch infolge der geringen Dicke der Gewebe und des hohen Wassergehaltes ihres Körpers jedenfalls weitgehender vom O₂-Druck unabhängig ist als der dickwandiger Actinien (v. BUDDENBROCK 1924). Für die geringe organische Trockensubstanz reicht trotz des oft langen Diffusionsweges die durch die verhältnismäßig große Gasaustauschfläche tretende O₂-Menge zur O₂-Sättigung der Gewebe aus. So beobachtete HENZE (1910) eine beträchtliche Unabhängigkeit des Stoffwechsels, z. B. bei *Pelagia noctiluca* und *Carmarina hastata*. Bei *Aurelia aurita* nahm der O₂-Verbrauch erst unterhalb von 5 ccm pro Liter (77% Sättigung) parallel zum absinkenden Druck ab (THILL 1937). Und auch bei den Madreporen, deren Gewebe in dünner Schicht über dem Skelet ausgebreitet sind, und die, besonders auch bei Expansion der Einzeltiere, eine beträchtliche Oberfläche im Verhältnis zur Körpermasse besitzen, sinkt der O₂-Verbrauch erst ab, wenn der O₂-Gehalt auf 40—50% des ursprünglichen Wertes erniedrigt ist (YONGE u. a. 1932).

Der O₂-Verbrauch wurde ferner nach Nahrungsaufnahme bei der Actinie *Metridium marginatum* bei gleichzeitiger Expansion erhöht gefunden, und zwar wohl infolge einer spezifisch dynamischen Wirkung der resorbierten Nahrung (PETRIK). Bei Nahrungsentzug nahmen bei *Aurelia* Volumen und O₂-Verbrauch gleichmäßig ab (THILL); die Volumabnahme war dabei recht beträchtlich, da sie nicht nur durch den Abbau organischer Substanz, sondern auch durch die gleichzeitige Ausscheidung von Wasser und Salzen bedingt ist, die zur Aufrechterhaltung des ursprünglichen Verhältnisses Wasser : Salze : organische Substanz notwendig wird.

Der Gaswechsel von *Aurelia* wurde durch die Temperatur (zwischen — 0,6 und 30,5°) stark beeinflußt (THILL). Über den Einfluß der Temperatur auf den O₂-Verbrauch anderer Medusen und Ctenophoren s. VERNON 1896; s. dagegen die Beobachtungen von PETRIK bei *Actinia*. Änderungen des Salzgehaltes der Umgebung (und zwar sowohl Erhöhung als auch Erniedrigung) rufen bei dieser Meduse eine Steigerung des O₂-Verbrauches hervor, was von THILL als Beweis für eine, wenn auch beschränkte, aktive osmotische Resistenz angesehen wird. Bei *Metridium marg.* ruft eine Änderung des Salzgehaltes eine allmähliche Kontraktion des Körpers mit gleichzeitiger Abnahme des O₂-Verbrauches hervor (SHOUP 1932). PALMHERT (1933) beobachtete bei

dem Hydroidpolyphen *Clava multicornis* innerhalb eines bestimmten Salzkonzentrationsbereiches einen gleichbleibenden O_2 -Verbrauch, oberhalb und unterhalb desselben, bei gleichzeitiger Schrumpfung bzw. Quellung jedoch eine Abnahme des O_2 -Verbrauches.

Schließlich ist auch hier noch auf die Bedeutung des Vorkommens von Algen oder anderen Chlorophyll führenden Organismen in den Geweben einer ganzen Reihe von Coelenteraten, soweit es sich dabei um Atmungsprobleme handelt, einzugehen. Grüne und gelbe Algen (Zoochlorellen [nur bei Süßwasserarten] und Zooxanthellen) wurden bei vielen Polypen der Hydrozoen, bei Chondrophoren, Madreporarien, Actinarien, Alcyonarien und Gorgonarien, hauptsächlich in den Entodermzellen (MATTHAI 1914, BOSCHMA 1924), zum Teil aber auch in Wanderzellen [z. B. bei Madreporen (YONGE und NICHOLLS 1931)] und in der Gastrovaskularflüssigkeit (DUERDEN 1902/04, FULTON 1921) nachgewiesen (s. auch GÖTSCH und SCHEURING). Bei den Medusen, bei denen ein Zusammenleben mit Algen seltener zu sein scheint (BROCH 1928), fanden sich bei *Linuche* (Scyphomeduse) größere Mengen von Zooxanthellen in dem früher als Atmungsorgan angesehenen Subumbrellarsäckchen, in den Kanälen der Randlappen und in den Mundlippen (THIEL). Die Zooxanthellen der Actinien gehören wohl zu den *Cryptochrysidaceen* (PAX); bei den Algen in der Gastrovaskularflüssigkeit soll es sich um *Cryptomonaden* handeln.

Eine eindeutige und allgemein gültige Erklärung über den Wert und die Bedeutung dieses Zusammenlebens für die Atmung der Coelenteraten zu geben, ist bis jetzt kaum möglich. *Lebensnotwendig* scheinen die Algen nicht zu sein, da z. B. gelegentlich algenfreie Kolonien sonst algenhaltiger Madreporen vorkommen (YONGE und NICHOLLS 1931), und besonders auch die in tieferen Wasserschichten vorkommenden Coelenteraten wegen des Fehlens der zur Assimilation nötigen Lichtmenge fast ausnahmslos algenfrei sind (THIEL 1929, YONGE und NICHOLLS 1931). Algenhaltige Chlorohydran, Madreporen können monatelang im Dunkeln bei guter Fütterung am Leben gehalten werden (GÖTSCH 1924, YONGE und NICHOLLS 1931, BEUTLER 1933); künstlich algenfrei gemachte Chlorohydran, algenfreie Korallen (MAYER 1918) sind längere Zeit lebensfähig (v. HAFNER 1925). Es ist von Interesse, daß die Zooxanthellen der Madreporen bei längerer Verdunkelung der Tiere ausgestoßen werden; die Zahl der Algen im Tierkörper ist von der Belichtungsgröße abhängig. Nach YONGE und NICHOLLS (1931) findet diese Ausstoßung immer dann statt, wenn der Stoffwechsel der Korallen irgendwie herabgesetzt wird und daher den Algen weniger Stoffwechselprodukte zur Verfügung stehen (so z. B. beim Hungern, bei zu geringem O_2 -Gehalt, bei zu hoher Temperatur usw.).

Sicher ist, daß der von den Algen bei Belichtung produzierte O_2 von den Coelenteraten direkt¹ zur Atmung benutzt wird (WINTERSTEIN 1921,

¹ S. dazu auch die Zurückweisung der von GÖTSCH (1924) und v. HAFNER für möglich gehaltenen Annahme, daß der O_2 nur indirekt über das umgebende Wasser übermittelt werden könne [durch BEUTLER (1933)].

v. BUDDENBROCK 1924). Dafür sprechen einmal einige Versuchsergebnisse, so z. B. daß algenhaltige Actinien (*Anthea*, *Aiptasia*) in abgeschlossenen Gefäßen bei Belichtung beträchtlich länger leben als im Dunkeln (BRANDT 1882), daß grüne Chlorohydrin in schlechtem Wasser besser aushalten und eine größere Lebensfähigkeit besitzen als braune Hydrin (GÖTSCH 1922, v. HAFFNER 1925, BOSCHMA 1925¹). In ausgepumptem Wasser unter Luftabschluß blieben Chlorohydrin, allerdings nur bei gleichzeitigem CO₂-Zusatz bedeutend länger am Leben als braune Hydrin; die von den Algen gebildete O₂-Menge kann dabei so groß sein, daß sie noch für im selben Glas eingeschlossene braune Hydrin zur Atmung ausreicht (BABÁK und HEPNER 1921). In völlig O₂-freiem Wasser konnten die grünen Hydrin jedoch auch bei Belichtung unter Umständen sogar eher absterben als die braunen, nach BABÁK, weil sie wohl an höhere O₂-Drucke gewöhnt sind (s. auch BOHN und DRZEWINA nach GÖTSCH 1924).

Einen exakten Beweis ergaben schließlich die Versuche von TRENDELENBURG (1909): nur bei Belichtung der algenhaltigen Actinie *Aiptasia diaphana* sinkt der O₂-Verbrauch des Tieres, es kann dabei sogar zu einer Abgabe von O₂ an die Umgebung kommen. Algenfreie Exemplare waren in ihrem Gaswechsel vom Lichteinfluß völlig unabhängig (s. auch PÜTTER 1911). Eine *Anemonia sulcata* (120 g) gab z. B. bei Belichtung in einer Stunde 5,67 ccm O₂ ab; da im Dunkeln 1,52 ccm O₂ verbraucht wurden, betrug die gesamte O₂-Produktion der Algen in 1 Stunde 7,19 ccm O₂. Über ähnliche auf eine O₂-Abgabe hinweisende Beobachtungen bei *Hydra viridis* s. ENGELMANN (1881), bei *Alcyonarien* s. CARY (1918), bei isolierten Zooxanthellen s. BRANDT (1882). Eine Abgabe von O₂-reichem Gas (32 bis 38% O₂) durch die gelben Zellen von *Anemonia sulcata* bei Sonnenbestrahlung beobachtete GEDDES (1882).

Die O₂-Produktion der Zooxanthellen von *Acropora hebes* war am Tage etwa 2,5—5mal so groß wie der O₂-Verbrauch des ganzen Tieres (VERWEY 1930/1931). Wegen der geringen Anzahl von Algen findet eine O₂-Abgabe der *Planula*-Larven algenhaltiger Madreporen an die Umgebung nur unter den günstigsten Belichtungsverhältnissen statt (MARSHALL 1932). In der Nähe von Korallenriffen und in Tümpeln auf diesen wurde am Abend nach sonnigen Tagen eine O₂-Übersättigung des Wassers bis zu 278% infolge der Photosynthese der Zooxanthellen nachgewiesen (YONGE u. a. 1932, ORR 1933, STEPHENSON u. a. 1934, s. auch GARDINER 1898, MAYER 1918, McCLENDON 1918, VERWEY 1930/31). Die gleichzeitigen Nachteile eines Zusammenlebens mit pflanzlichen Organismen, die bei fehlendem Licht als O₂-Konkurrenten und CO₂-Produzenten auftreten, ließen die O₂-Bestimmungen am Ende der Nacht erkennen, wo der O₂-Gehalt auf 18% der Luftsättigung abgesunken war. Obwohl also am Tage

¹ S. dagegen die Beobachtung von FULTON (1921), daß *Actinia bermudensis*, bei der Zooxanthellen allerdings nur in der Gastrovaskularflüssigkeit nachweisbar sind, in einer abgeschlossenen Wassermenge bei Belichtung nur ebenso lange lebt wie im Dunkeln.

meist noch beträchtliche O_2 -Mengen an die Umgebung abgegeben werden, reicht die von den Algen in 24 Stunden gebildete O_2 -Menge jedoch nicht für den O_2 -Bedarf der Korallen in dieser Zeit aus (YONGE u. a. 1932, s. auch TRENDELENBURG 1909).

Für die Ausnutzung des von den Algen gebildeten O_2 spricht auch, daß die positive Oxygenotaxis der braunen *Hydra* bei der algenhaltigen *Chlorohydra viridissima* bei Belichtung fehlt; *Chlorohydra* bleibt dann am Boden der Gefäße sitzen. Im Dunkeln tritt diese Reaktion jedoch sehr bald und sehr intensiv in Erscheinung, die Tiere hängen dann an der Wasseroberfläche (HAASE-EICHLER 1931, BEUTLER 1933). Auf die Bedeutung der Algen weist ferner die Beobachtung hin, daß z. B. die Vertikalverteilung der riffbauenden Korallen weitgehend von der Lichtmenge, die durch das Wasser dringen kann, abhängig ist, d. h. also in Beziehung zu dem guten Gedeihen der Zooxanthellen steht (BOSCHMA 1926, VERWEY 1931, YONGE u. a. 1932). Da, sicher jedenfalls bei den Madreporen¹, die Algen in keiner Weise von dem tierischen Organismus als Nahrung benutzt werden (YONGE 1930, YONGE und NICHOLLS 1931, s. dagegen BOSCHMA 1926), lag es nahe, dem durch die Algen gebildeten O_2 eine vitale Bedeutung bei diesem Zusammenleben beizumessen (VAUGHAN 1917). So wird von VERWEY (1931) angenommen, daß die am Tage durch die symbiontischen Algen gebildete O_2 -Menge zur Lebenserhaltung der großen Tiermengen eines lebenden Korallenriffes wegen des Fehlens von Wasserströmungen (die O_2 heranbringen könnten) unbedingt erforderlich ist. YONGE u. a. (1933) weisen jedoch (wohl mit Recht) darauf hin, daß dies nicht das Vorhandensein der Algen in den Korallen erklären könne, da z. B. Phytoplankton in der Umgebung der Korallen dasselbe leisten würde (s. auch GÖTSCH 1924). Von YONGE u. a. wird daher angenommen, daß die Algen, die bei den Madreporen sich oft in Wanderzellen und besonders auch in den Mesenterialfilamenten befinden, hauptsächlich zur Entfernung der tierischen Stoffwechselprodukte dienen und so als automatische Exkretionsorgane funktionieren, die den Coelenteraten sonst fehlen (YONGE und NICHOLLS 1931).

Die von dem tierischen Organismus gebildete CO_2 wird nämlich [neben anderen Stoffwechselendprodukten wie Phosphor-, Stickstoffverbindungen usw. (YONGE und NICHOLLS 1931)] von den Algen entfernt (v. HAFFNER). Während starker Belichtung verhalten sich also die Korallen wie pflanzliche Organismen: sie geben O_2 an die Umgebung ab und nehmen CO_2 auf (MARSHALL 1932). Werden algenhaltige Madreporen in abgeschlossenen Gefäßen gehalten, dann nimmt der p_H -Wert des Wassers bei Belichtung viel weniger ab als im Dunkeln; bei der algenfreien *Dendrophyllia* sinkt dagegen im Licht der p_H -Wert ebenso wie im Dunkeln stark ab. Im ganzen (in länger dauernden Versuchen)

¹ Dagegen beobachtete GÖTSCH (1924), daß Chlorohydrinen, die künstlich algenfrei gemacht waren, nur etwa $\frac{1}{2}$ solange ohne Nahrung auskommen konnten als Tiere mit Symbionten.

wird also selbst von den algenhaltigen Korallen immer mehr CO_2 gebildet, als von den Algen verbraucht werden kann (YONGE und NICHOLLS 1931). — Auch bei algenhaltigen Actinien nimmt bei Belichtung der CO_2 -Gehalt des Wassers ab (TRENDELENBURG 1909).

In diesem Zusammenhange ist schließlich noch eine Beobachtung von BEUTLER (1926) bei *Pennaria cavolinii*- und *Eudendrium capillare*-Kolonien zu erwähnen. Bei Sonnenbestrahlung bildeten sich allenthalben an diesen Hydroidpolypenstöcken infolge der Assimilation saprophytischer Algen kleine Gasbläschen; sie fanden sich auch in fast allen Hydranthen, die sie zum Teil prall ausfüllten. Es wird die Frage offen gelassen, ob die Gasbläschen aktiv aufgenommen werden, oder ob sie im Magen durch verschluckte Algen gebildet werden.

Nach v. BUDDENBROCK (1924) sind alle algenenthaltenden Organismen mehr oder weniger stark positiv phototaktisch und suchen aktiv Biotope auf, deren Lichtverhältnisse den Algen eine Assimilation gestatten. In bezug auf die Coelenteraten ist dazu folgendes zu erwähnen: Auch die algenhaltige *Chlorohydra* ist stark positiv phototaktisch (HAASE-EICHLER 1931). Nach GÖRTSCH (1924) sind jedoch auch andere Süßwasserpolypenarten positiv phototaktisch, besonders auch die künstlich algenfrei gemachten Chlorohydranthen. Die stark positive Lichtreaktion macht so die Chlorohydranthen in hohem Grade für die Algenaufnahme geeignet. Zooxanthellen kommen bei Anthozoen in der Regel nur bei Oberflächen- oder Litoralbewohnern vor, wo gute Lichtverhältnisse (aber in der Regel auch ein hoher O_2 -Gehalt!) herrschen. Bei den einzelnen Kolonien (z. B. Alcyonarien) sind die zentralen Teile wegen des Lichtmangels meist algenfrei. Bei den *Gorgonaria*, bei denen sich die Zooxanthellen häufig im Bereich der Gastralräume und des mesogläalen Kanalsystems befinden, kommen allerdings auch bei Arten in großer Meerestiefe Algen vor und dienen dann wohl nur Nahrungszwecken. Über die verschiedenen Einflüsse der Belichtung auf den Expansionsrhythmus algenhaltiger und algenfreier Actinien s. oben.

Noch eine andere Bedeutung soll schließlich nach THIEL (1929) den Zooxanthellen der Steinkorallen zukommen, deren große Bedeutung für die Korallen schon z. B. aus der Häufigkeit des Vorkommens der Algen, aus dem großen Einfluß des Lichtes auf die Schnelligkeit des Wachstums usw. deutlich wird. Da, wie schon erwähnt (s. oben), die Nahrung der Korallen jedoch nur aus tierischem Material besteht, wird von THIEL angenommen, daß der durch die Algen gebildete O_2 indirekt der Skelettbildung zugute kommen soll, da die bei der Kalkbildung benötigten großen CO_2 -Mengen nur durch eine reichliche Aufnahme von O_2 gebildet werden können. Da die normale Gasdiffusion aus der Umgebung dazu nicht ausreicht, ist der Assimilations- O_2 der Algen für eine schnelle Skelettbildung besonders in südlichen Gewässern erforderlich. In kälteren Meeren und bei kleineren Ausmaßen des Skeletes soll der von außen aufgenommene O_2 genügen, die Algen sind dort entbehrlich. Es darf bei diesem Erklärungsversuch meines Erachtens jedoch

nicht außer acht gelassen werden, daß bei der Algenassimilation für jedes auftretende O₂-Volumen das gleiche Volumen CO₂ verbraucht wird und es daher auf diese Weise nicht zu einer vermehrten CO₂-Bildung kommen kann [s. auch den Einwand von YONGE u. a. (1932), daß Zooxanthellen auch bei vielen Coelenteraten vorkommen, die kein Kalkskelet bilden]. Es ist daher wohl wahrscheinlicher, daß die Zooxanthellen, wie es YONGE u. a. für die Madreporarien annehmen, bei allen Coelenteraten hauptsächlich als Exkretionsorgane wirken.

Literatur.

I. Schwämme.

- ANNANDALE, N.: Notes on freshwater sponges. Rec. Ind. Mus. Calcutta **1907**, 1 (nach BABÁK).
- ARNDT, W.: Schwämme (*Porifera, Spongia*). Tabulae biologicae (ed. W. JUNK), Bd. VI, Suppl. II, S. 39. 1930.
- Die Poriferen vom Standpunkt der Strahlungsbiologie. Sitzgsber. Ges. naturforsch. Freunde Berl. **1936**, 315.
- Spongiologische Untersuchungen am Ochridasee. Arch. f. Hydrobiol. **34**, 48 (1938).
- BABÁK, E.: Die Mechanik und Innervation der Atmung. WINTERSTEINs Handbuch der vergleichenden Physiologie, Bd. I, 2. Hälfte, S. 272. 1921.
- BIDDER, G. P.: The relation of the form of a sponge to its currents. Quart. J. microsc. Sci., N. s. **67**, 293 (1923).
- Nature (Lond.) **132**, 441 (1923).
- Sponges. Encyclopaedia brit. **21**, 254 (1929).
- BUCK, E.: Beobachtungen an Schwämmen des Bodensees und ihre Züchtung im Aquarium. Offenbach. Ver. Naturkde **36**, 25 (1895).
- BUDDENBROCK, W. v.: Über die Abhängigkeit der Atmung vom Sauerstoffdruck. Nova Acta Leopoldina, N. F. **6**, 1 (1938).
- DAM, L. VAN: On the utilization of oxygen and regulation of breathing in some aquatic animals. Diss. Groningen 1938.
- DELAGE, Y. et E. HÉROUARD: Traité de Zoologie concrète, Tome 2.
- FISCHER: Ann. Inst. Océanogr. Monaco, N. s. **5**, 205 (1929).
- HAZELHOFF, E. H.: Über die Ausnutzung des Sauerstoffs bei verschiedenen Wassertieren. Z. vergl. Physiol. **26**, 306 (1938).
- HYMAN, L. B.: On the action of certain substances on O₂-consumption. I. Amer. J. Physiol. **50**, 238 (1916).
- Respiratory differences along the axis of the sponge *Grantia*. Biol. Bull. Mar. biol. Labor. Wood's Hole **48**, 379 (1925).
- JEWELL, M. E.: An ecological study of the freshwater sponges of northern Wisconsin. Ecol. Monogr. **5**, 461 (1935).
- JORDAN, H. J.: Allgemeine vergleichende Physiologie der Tiere. Berlin u. Leipzig 1929.
- LAUBENFELS, M. W. DE: Physiology and morphology of *Porifera* exemplified by *Iotrochota bivortulata*. Publ. Carnegie Inst. Washington **37**, Nr 435 (1932).
- LENDENFELD, R. v.: Experimentelle Untersuchungen über die Physiologie der Spongien. Biol. Zbl. **10**, 75 (1890).
- MAAS, O.: Mitt. zool. Stat. Neapel **10**, 414 (1892).
- McNAIR, G. T.: Motor reactions of the freshwater sponge *Ephydatia fluviatilis*. Biol. Bull. Mar. biol. Labor. Wood's Hole **44**, 153 (1923).
- MOORE, B., E. S. EDIE, E. WHITLEY and W. J. DAKIN: The nutrition and metabolism of marine animals in relationship to dissolved organic matter and particulate organic matter of sea-water. Biochemic. J. **6**, 255 (1912).

- OLD, M. C.: Environmental selection of freshwater sponges (*Spongillidae*) of Michigan. Trans. amer. microsc. Soc. **51**, 134 (1932).
- PARKER, G. H.: The reactions of sponges, with a consideration of the origin of the nervous system. J. of exper. Zool. **8**, 1 (1910).
- On the strength and the volume of the water currents produced by sponges. J. of exper. Zool. **16**, 445 (1914).
- PÜTTER, A.: Vergleichende Physiologie, 1911.
- Der Stoffwechsel der Kieselschwämme. Z. allg. Physiol. **16**, 64 (1914).
- SCHRÖDER, K.: Haltung und Aufzucht von Süßwasserschwämmen. Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden, herausgeg. von ABDERHALDEN, Abt. IX, Teil 2/II, S. 1563. 1930.
- TRIGT, H. VAN: Contributions to the physiology of the freshwater sponges. Tijdschr. nederl. Dierk. Ver. II. s. **17**, 1 (1919).

II. Coelenteraten.

- ALLMAN, F. R. S.: A monograph of the Gymnoblastic or Tubularian Hydroids. Lond. roy. Soc. 1872.
- BABÁK, E.: Die Mechanik und Innervation der Atmung. WINTERSTEINS Handbuch der vergleichenden Physiologie, Bd. I, 2. Hälfte, S. 272. 1921.
- BAGLIONI, S.: Über das Sauerstoffbedürfnis des Zentralnervensystems bei Seetieren. Z. allg. Physiol. **5**, 428 (1905).
- BARTH, L. G.: O₂ as a controlling factor in the regeneration of *Tubularia*. Physiologic. Zool. **11**, 179 (1938).
- BETHE, A.: Die Bedeutung der Elektrolyten für die rhythmischen Bewegungen der Medusen. II. Pflügers Arch. **127**, 219 (1909).
- BEUTLER, R.: Beobachtungen an gefütterten Hydroidpolypen. Z. vergl. Physiol. **3**, 743 (1926).
- Über die Sauerstoffempfindlichkeit bei *Hydra*. Z. vergl. Physiol. **18**, 718 (1933).
- BOHN, G.: De l'influence de l'oxygène dissous sur les réactions des actinies. C. r. Soc. Biol. Paris **64**, 1087 (1908).
- Les facteurs de la rétraction et de l'épanouissement des actinies. C. r. Soc. Biol. Paris **64**, 1163 (1908).
- L'épanouissement des actinies dans les milieus asphyxiques. C. r. Soc. Biol. Paris **65**, 317 (1908).
- Comparaison entre les réactions des actinies de la méditerranée et celles de la manche. C. r. Soc. Biol. Paris **68**, 253 (1910).
- BOSCHMA, H.: On the food of madreporia. Proc. Acad. Sci. Amsterd. **27**, 13 (1924).
- The nature of the association between Anthozoa and Zooxanthellae. Proc. amer. Acad. Arts a. Sci. **11**, 65 (1925).
- On the feeding reactions and digestion in the coralpolyp *Astrangia danae*. Biol. Bull. Mar. biol. Labor. Wood's Hole **49**, 407 (1925).
- On the food of reef corals. Proc. Acad. Sci. Amsterd. **29**, 993 (1926).
- BRAND, Th. Frhr. v.: Das Leben ohne Sauerstoff bei wirbellosen Tieren. Erg. Biol. **10**, 37 (1934).
- BRANDT, K.: Über die morphologische und physiologische Bedeutung des Chlorophylls bei Tieren. Arch. f. (Anat. u.) Physiol. **1882**, 125. — Mitt. zool. Stat. Neapel **4**, 191 (1883).
- BROCH, H.: Hydrozoa. I., II. Die Tierwelt der Nord- und Ostsee von GRIMPE und WAGLER, Lfg 13. Leipzig 1928.
- BUDDENBROCK, W. v.: Grundriß der vergleichenden Physiologie. Berlin: Gebrüder Bornträger 1924.
- Über die Abhängigkeit der Atmung vom Sauerstoffdruck. Nova Acta Leopoldina, N. F. **6**, 1 (1938).

- CARLGRÉN, O.: Über die Bedeutung der Flimmerbewegung für den Nahrungstransport bei den Actinarien und Madreporien. Biol. Zbl. **25**, 308 (1905).
- CARY, L. R.: Observations on the ecology and growth-rate of Gorgonians. Carnegie Inst. Washington Nr. **182**, 81 (1914).
- A study of respiration in alcyonaria. Pap. Dep. Mar. Biol. Carnegie Inst. **12**, 187 (1918).
- DRZEWINA, A. et G. BOHN: Modifications rapides de la forme sous l'influence de la privation d'oxygène chez une méduse, *Eleutheria dichotoma*. C. r. Acad. Sci. Paris **153**, 1030 (1911).
- DUERDEN, J. E.: Westindian Madreporian Polyps. Mem. Nat. Acad. Sci. Washington **8** (1902).
- The coral *Siderastraea radians* and its postlarval development. Carnegie Inst. Washington Publ. **1904**, Nr 20.
- ENGELMANN, TH. W.: Neue Methode zur Untersuchung der O₂-Ausscheidung pflanzlicher und tierischer Organismen. Pflügers Arch. **25**, 285 (1881).
- FULTON, J. F.: Concerning the vitality of actinia bermudensis: a study in symbiosis. J. of exper. Zool. **33**, 353 (1921).
- GARDINER, J. S.: The coral reefs of Funafuti a. s. o. Proc. Cambridge Philos. Soc. **9**, 417 (1898).
- The building of Atolls. Proc. 4. internat. Congr. Zool. 1899, p. 118.
- GEDDES, P.: On the nature and functions of the "yellow" cells of radiolarians and coelenterates. Proc. roy. Soc. Edinburgh **11**, 377 (1882).
- Further researches on animals containing chlorophyll. Nature (Lond.) **25**, 303 (1882).
- GEMMILL, J. F.: Proc. roy. physiol. Soc. Edinburgh **1918**.
- GÖTSCH, W.: Symbiose und Artproblem bei *Hydra*. Naturwiss. **10**, 867 (1922).
- Die Symbiose der Süßwasserhydroiden und ihre künstliche Beeinflussung. Z. Morph. u. Ökol. Tiere **1**, 660 (1924).
- u. L. SCHEURING: Parasitismus und Symbiose der Algengattung *Chlorella*. Z. Morph. u. Ökol. Tiere **7**, 220 (1927).
- HAACKE, W.: Zur Physiologie der Anthozoen. Zool. Garten **27**, 284 (1886).
- HAASE-EICHLER, R.: Beiträge zur Reizphysiologie von *Hydra*. Zool. Jb., Physiol. **50**, 265 (1931).
- HAECKEL, E.: System der Medusen. Jena: Gustav Fischer 1879.
- HAFFNER, K. v.: Untersuchungen über die Symbiose von *Dalyella viridis* und *Chlorohydra viridissima* mit Chlorellen. Z. Zool. **126**, 1 (1925).
- HARNISCH, O.: Studien zur Physiologie des Gaswechsels von Tieren ohne Regulierung der O₂-Aufnahme bei wechselndem O₂-Partialdruck. Z. vergl. Physiol. **16**, 335 (1932).
- HASE, A.: Über eine eigentümliche Bewegungsform des Körperschlauches bei *Hydra*. Zool. Anz. **35**, 53 (1910).
- HENZE, M.: Über den Einfluß des O₂-Druckes auf den Gaswechsel einiger Meerestiere. Biochem. Z. **26**, 255 (1910).
- HERTWIG, R.: Lehrbuch der Zoologie, 1919.
- HOVASSE, R.: Association momentanée actinies et rascasses. Bull. Soc. zool. France **55**, 45 (1930).
- JACOBS, W.: Über das Schweben der Siphonophoren. Forschgn u. Fortschr. **13**, 410 (1937).
- Beobachtungen über das Schweben der Siphonophoren. Z. vergl. Physiol. **24**, 583 (1937).
- Schweben mit Hilfe von Gas bei Wassertieren. Arch. néerl. Zool. **3**, Suppl., 115 (1938).
- KEPNER and L. MILLER: A new histological region in *Hydra*. Anat. Rec. **34**, 199 (1926).

- KRAMER, G.: Untersuchungen über den Stoffwechsel der Seeanemone (*Anemonia sulcata* P.). Zool. Jb., Physiol. **58**, 163 (1937).
- KROGH, A.: The respiratory exchange of animals and man. Monogr. on Biochemistry. London 1916.
- KRUMBACH, TH.: *Ctenophora*. Handbuch der Zoologie von W. KÜKENTHAL und KRUMBACH, B. I. 1923/25.
- *Ctenophora*. Die Tierwelt der Nord- und Ostsee von GRIMPE und WAGLER, Lfg 7. Leipzig 1927.
- *Scyphozoa*. Die Tierwelt der Nord- und Ostsee von GRIMPE und WAGLER, Lfg 17. Leipzig 1930.
- KÜKENTHAL, W.: Beobachtungen an einigen Korallentieren des adriatischen Meeres. Natur u. Mus. **5**, 324 (1909).
- LEDEBUR, J. Frhr. v.: Der Sauerstoff als ökologischer Faktor. Erg. Biol. **16**, 173 (1939).
- MARSHALL, S. M.: Notes on O₂-production in coral planulae. Brit. Mus. (Nat. Hist.), Great Bar. Reef Exp. Sci. Rep., Vol. I, Nr 9. 1932.
- MATTHAI, G.: A revision of the recent colonial *Astraeidae* possessing distinct corallites. Trans. Linn. Soc. Lond. Zool. **17**, 1 (1914).
- MATTHEWS, A.: The development of *Alcyonium digitatum*. Quart. J. microsc. Sci., N. s. **62**, 43 (1916).
- MAYER, A. G.: Ecology of the Murray Island Reef. Pap. Dept. Mar. Biol. Carnegie Inst. **9**, 1 (1918).
- Toxic effects due to high temperature. Pap. Dept. Mar. Biol. Carnegie Inst. **12**, 175 (1918).
- Structure and Ecology of Samoan Reefs. Pap. Dept. Mar. Biol. Carnegie Inst. **19**, 1 (1924).
- McCLENDON, J. F.: The direct and indirect calorimetry of *Cassiopea xamachana*. J. of biol. Chem. **32**, 275 (1917).
- On changes in the sea and their relation to Organisms. Pap. Dept. Mar. Biol. Carnegie Inst. **12**, 213 (1918).
- MOSER, F.: *Siphonophora*. Handbuch der Zoologie von W. KÜKENTHAL und TH. KRUMBACH, Bd. I. 1923/25.
- ORR, A. P.: Variations in some physical and chemical conditions on and near low isles reef. Brit. Mus. (Nat. Hist.), Great Bar. Reef Exp. Sci. Rep., Vol. II, Nr 4, p. 87. 1933.
- PALMHERT, H. W.: Beiträge zum Problem der Osmoregulation einiger Hydroidpolypen. Zool. Jb., Physiol. **53**, 212 (1933/34).
- PAX, F.: *Anthozoa*. Die Tierwelt der Nord- und Ostsee von GRIMPE und WAGLER, Lfg 26 u. 30. Leipzig 1934/36.
- PETRIK, J. M.: La régulation de la consommation d'oxygène chez les actinies. C. r. Soc. Biol. Paris **106**, 399 (1931).
- PIÉRON, H.: De l'influence de l'oxygène dissous sur le comportement des invertébrés marins. I—V. C. r. Soc. Biol. Paris **64**, 886, 955, 1020, 1061, 1161 (1908).
- La rhythmicité chez *Actinia equina*. C. r. Soc. Biol. Paris **65**, 726 (1908).
- Commensalisme d'actinies. Feuille Natural. **47**, 30 (1926).
- PÜTTER, A.: Der Stoffwechsel der Aktinien. Z. allg. Physiol. **12**, 297 (1911).
- QUATREFAGES, A. DE: Mémoire sur l'organisation des Physalies. Ann. des Sci. natur., Zool. (4) **2**, 107 (1854).
- ROCH, F.: Experimentelle Untersuchungen an *Cordylophora caspia* über die Abhängigkeit ihrer geographischen Verbreitung und ihrer Wuchsform von den physikalisch-chemischen Bedingungen des umgebenden Milieus. Z. Morph. u. Ökol. Tiere **2**, 350 (1924).

- SCHLOESING, TH. et J. RICHARD: Recherche de l'argon dans les gaz de la vessie natatoire des poissons et des Physalies. C. r. Acad. Sci. Paris **122**, 615 (1896).
- SHOUP, C. S.: Salinity of the medium and its effect on respiration in the sea-anemone. Ecology **13** (1932).
- STEPHENSON, T. A., A. ZOOND and J. EYRE: The liberation and utilisation of O₂ by the population of rock-pools. J. of exper. Biol. **11**, 162 (1934).
- Tabulae biologicae* (W. JUNK), Bd. III, S. 503. 1926.
- THIEL, M. E.: Zur Frage der Ernährung der Steinkorallen und die Bedeutung ihrer Zooxanthellen. Zool. Anz. **81**, 295 (1929).
- Scyphomedusen. BRONNS Klassen und Ordnungen, Bd. 2, Abt. 2., 2. Buch. 1936.
- THILL, H.: Beiträge zur Kenntnis der *Aurelia aurita*. Z. Zool. **150**, 51 (1937).
- TRENDELENBURG, W.: Versuche über den Gaswechsel bei Symbiose zwischen Alge und Tier. Arch. f. (Anat. u.) Physiol. **1909**, 42.
- VAUGHAN, T. W.: Corals and the formation of coral reefs. Ann. Rep. Smithsonian Inst. **1917**, 189.
- VERNON, H. M.: The respiratory exchange of the lower marine invertebrates. J. of Physiol. **19**, 18 (1896).
- VERWEY, J.: Depth of coral reefs and the penetration of light. With notes on O₂-consumption of corals. Proc. 4. Pacif. Sci. Congr. Batavia **2**, 271 (1930).
- Coral reef studies. II. The depth of coral reefs in relation to their O₂-consumption and the penetration of light in the water. Treubia **13**, 169 (1931).
- WELCH, P. S. and H. A. LOOMIS: A limnological study of *Hydra oligactis* in Douglas Lake, Michigan. Trans. amer. microsc. Soc. **43**, 203 (1924).
- WILHELMI: Mitt. Prüfungsamt Wasserversorgg Berl. **16**, 123 (1912), nach PAX 1936.
- WILSON, E. B.: The heliotropism of *Hydra*. Amer. Naturalist **25**, 413 (1891).
- WINTERSTEIN, H.: Wärmelähmung und Narkose. Z. allg. Physiol. **5**, 323 (1905).
- Die physikalisch-chemischen Erscheinungen der Atmung. Handbuch der vergleichenden Physiologie, Bd. I, 2. Hälfte. 1921.
- WOLTERECK, R.: Beiträge zur Ontogenie und Ableitung des Siphonophorenstockes. Z. Zool. **82**, 611 (1905).
- YONGE, C. M.: Studies on the physiology of corals. Feeding mechanisms and food. Brit. Mus. (Nat. Hist.), Great Bar. Reef Exp. Sci. Rep., Vol. I, Nr. 2. 1930.
- Studies on the physiology of corals. 3. Assimilation and excretion. Brit. Mus. (Nat. Hist.), Great Bar. Reef Exp. Sci. Rep., Vol. I, Nr 4. 1931.
- and A. G. NICHOLLS: Studies on the physiology of corals. 4. The structure, distribution and physiology of the Zooxanthellae. Brit. Mus. (Nat. Hist.), Great Bar. Reef Exp. Sci. Rep., Vol. I, Nr 6. 1931.
- — Studies on the physiology of corals. 5. The effect of starvation in light and in darkness on the relationship between corals and Zooxanthellae. Brit. Mus. (Nat. Hist.), Great Bar. Reef Exp. Sci. Rep., Vol. I, Nr 7. 1931.
- M. J. YONGE and A. G. NICHOLLS: Study on the physiology of corals. 6. The relationship between respiration in corals and the production of O₂ by their Zooxanthellae. Brit. Mus. (Nat. Hist.), Great Bar. Reef Exp. Sci. Rep., Vol. I, Nr 8. 1932.

Von der Leistung des Jacobsonschen Organs bei den Wirbeltieren.

Von HERMANN KAHMANN, München.

Mit 20 Abbildungen.

Inhaltsübersicht.		Seite
A.	Einleitung	292
B.	Die Funktion des JACOBSONSchen Organs bei Säugetieren	293
1.	Morphologische Bemerkungen über das JACOBSONSche Organ der Säugetiere	293
2.	Experimentelle Untersuchungen am JACOBSONSchen Organ der Säugetiere	295
a)	Über den Pumpmechanismus des JACOBSONSchen Organs	296
b)	Das JACOBSONSche Organ als „Mundgeruchsorgan“	300
c)	Über die Bedeutung des JACOBSONSchen Organs	303
C.	Die Funktion des JACOBSONSchen Organs bei den Reptilien	305
1.	Morphologische Bemerkungen über das JACOBSONSche Organ der <i>Squamata</i> : Echsen (<i>Lacertilia</i>) und Schlangen (<i>Ophidia</i>)	305
2.	Experimentelle Untersuchungen über das JACOBSONSche Organ der Echsen und Schlangen	307
a)	Die Untersuchungen BROMANS und ihre theoretischen Folgerungen	307
b)	Die Leistungen des JACOBSONSchen Organs als Witterungsorgan bei Schlangen und Echsen	310
c)	Die Bedeutung der Zunge im Züngelmechanismus bei Schlangen und Echsen	319
d)	Das JACOBSONSche Organ als Mundgeruchsorgan	323
e)	Weiteres von der Leistung des JACOBSONSchen Organs und von seiner biologischen Bedeutung	325
f)	Versuch einer vergleichenden Betrachtung des Mechanismus Zunge — JACOBSONSches Organ	329
Literatur	334

A. Einleitung.

Die Sonderbildung der Nase der Landwirbeltiere, die als „JACOBSONSches Organ“ bezeichnet wird, ist entwicklungsgeschichtlich und anatomisch weitgehend bekannt geworden. Dabei hat sich schon sehr früh die Frage nach der Leistung dieses bei den einzelnen Wirbeltierklassen so verschieden entwickelten Organs erhoben. Im Anschluß an die unzähligen und vielseitigen morphologischen Untersuchungen hat es an theoretischen, oft rein spekulativen Erklärungsversuchen nicht gefehlt. Nur vereinzelt wurde der Versuch gemacht, etwas über die Funktion des Organs experimentell herauszuarbeiten. Es geht hier nicht an, so

verlockend es auch wäre, die vielen Ansichten und Deutungen vorzutragen, die je über die Funktion des JACOBSONSchen Organs ausgesprochen wurden. Das ist an anderen Stellen geschehen und kann dort nachgelesen werden (z. B. PEARLMAN 1934). Hier können nur jene Untersuchungen eine Berücksichtigung erfahren, die anstreben, auf experimenteller Grundlage den Funktionsbereich des JACOBSONSchen Organs zu erfassen. Solche Untersuchungen sind spärlich. Für Amphibien fehlen sie vollständig, wenn man nicht die Untersuchung von MATTHES (1926a) als einen Anfang betrachten will. Reptilien und Säugetiere sind weniger vernachlässigt worden. Doch ist man auch hier in vielen Punkten noch recht weit von einer umfassenderen Kenntnis entfernt. Es ist jedoch nicht undankbar, das bis jetzt vorliegende Schrifttum einmal im Zusammenhang zu betrachten, um den Kreis der Fragen wie auch den Stand der Erkenntnis herauszustellen. Unter dieser Absicht ist es dann auch gerechtfertigt, wenn bisweilen Erwägungen Raum gegeben wird, die noch jeder experimentellen Grundlage entbehren.

B. Die Funktion des Jacobsonschen Organs bei Säugetieren.

Das JACOBSONSche Organ wird bei allen Säugetieren beobachtet. Mindestens ist es embryonal nachweisbar. Im erwachsenen Zustand lassen es manche Säugetiere ganz vermissen, bei anderen ist es stark zurückgebildet (Primaten, manche Chiropteren und die Wassersäugetiere). Gut entwickelt ist es bei Kloakentieren (*Monotremata*), Beuteltieren (*Marsupialia*), Insektenfressern (*Insectivora*), Nagetieren (*Rodentia*) und Huftieren (*Ungulata*). Bei niederen Säugetieren ist das JACOBSONSche Organ gemeinhin besser ausgebildet als bei höheren.

1. Morphologische Bemerkungen über das Jacobsonsche Organ der Säugetiere.

Das JACOBSONSche Organ hat die Gestalt eines langgestreckten Schlauches (Abb. 1). Es liegt medial, in die Schleimhaut der Nasenscheidewand eingebettet, dicht über dem Nasenboden, der oft nur als schmale Rinne ausgebildet ist. Das Organ wird von einem Knorpel des Nasenkapselbodens (*Cartilago paraseptalis*, JACOBSONScher Knorpel) meist halbrinnenförmig (von medial-ventral her), selten röhrenförmig (Monotremen) umhüllt. Das hintere Ende des Organschlauches ist blind geschlossen. Das vordere Ende des Organs mündet in einigen Fällen in die Nasenhöhle ein [Nagetiere (GRATIOLET 1845, BROMAN 1920b, LAUTENSCHLAGER 1934) und *Xenarthra* (soweit untersucht, BROMAN 1920b)]. Bei der Mehrzahl der Säugetiere öffnet sich das JACOBSONSche

Organ in den STENSONSchen Gang (Ductus nasopalatinus). Die Mündungsstelle liegt bald im oberen, bald im unteren Abschnitt dieses Ganges. Die Mündung ist viel enger als das Lumen des Organs.

Die Abb. 2 zeigt einen Querschnitt durch die JACOBSONSchen Organe einer Maus. Das Bild ist bei allen Säugetieren ähnlich. Das Sinnesepithel (Riechepithel) bekleidet die mediale Seite der Organwand. Auf der Lateralseite befindet sich eine Art respiratorisches Epithel (Flimmerepithel). Sie ist aber besonders dadurch gekennzeichnet, daß sie sich

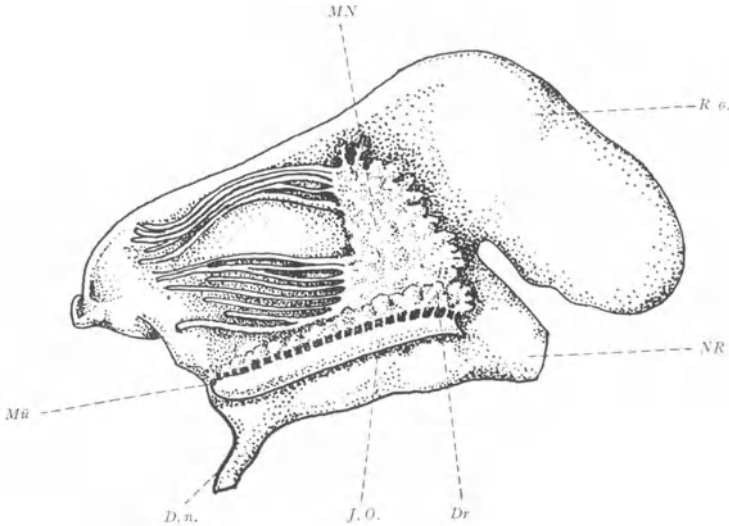


Abb. 1. *Oryctolagus cuniculus* L. Rekonstruktionsmodell der medialen Wand der rechten Nasenhöhle eines 63,7 mm langen Fetus. Das JACOBSONSche Organ mit seinen Drüsen ist in der ganzen Länge sichtbar. Nach MATTHES (1934 c) aus BROMAN (1920 b). *D. n.* Ductus nasopalatinus (STENSONScher Gang), *Dr* Drüsen des JACOBSONSchen Organs, *J. O.* JACOBSONSches Organ, *MN* Mediane Nasendrüse, *Mü* Mündung des JACOBSONSchen Organs, *NR* Nasen-Rachengang, *R. o.* Regio olfactoria. (Vergr. 15fach.)

in das Lumen des Organs hinein vorwölbt. Dieser laterale Wulst ist bei allen Säugetieren eigentümlich differenziert. Er enthält reichlich elastische Fasern und glatte Muskelzellen, außerdem findet sich darin regelmäßig eine große starkwandige Vene oder ein von vielen kleinen Gefäßen gebildeter Schwellkörper (BROMAN 1920 b und vor ihm andere).

Das JACOBSONSche Organ besitzt auch einen eigenen Drüsenapparat (vgl. BROMAN 1920 b u. a). Die gesamte Drüsenmasse ist im Verhältnis zum Organ sehr reichlich entwickelt. So ist das Organlumen ständig von einem serösen (KLEIN 1881) Drüsensekret erfüllt. In der Ruhe dürfte sich das Sekret in ständiger Strömung zur Mündungsstelle befinden und nach außen abfließen. BROMAN stellt diese Drüsen in ihrer Funktion den v. EBNERSchen Drüsen gleich, die am Boden der Papillae

vallatae der Zunge ausmünden. Er glaubt also, daß sie wesentlichen Anteil daran haben, Reizstoffe aus dem Organlumen auszuspülen und das Sinnesepithel vor Abstumpfung zu schützen.

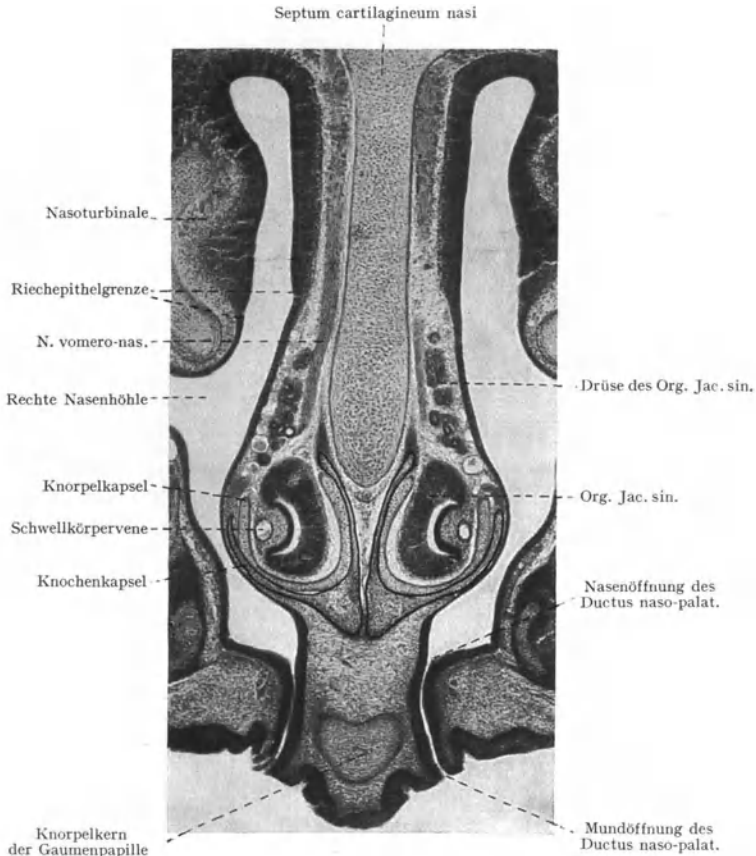


Abb. 2. *Mus musculus* L. Querschnitt durch die Nasenseidewand einer neugeborenen Maus (28 mm lang), um die JACOBSONSchen Organe zu zeigen. Die STENSONSchen Gänge sind in ihrer ganzen Länge getroffen. Aus BROMAN 1920 b. (Vergr. 50fach.)

2. Experimentelle Untersuchungen am Jacobsonschen Organ der Säugetiere.

Wegen des Schwellmechanismus in der Lateralwand des Organs hatte PIANA (1880) der Vermutung Raum gegeben, daß das JACOBSONSche Organ wahrscheinlich Pumpbewegungen ausführen könne und ein Geruchsorgan darstelle, das der Regio olfactoria der Hauptnase zu Hilfe komme „nelle circostanze in cui si richiede maggiore squisitezza sensitiva“. Diese Ansicht fand den meisten Widerhall (HERZFELD 1889;

SEYDEL 1895; v. MIHALKOVICS 1899). Sie lieferte auch die Grundlage für experimentelle Untersuchungen.

a) Über den Pumpmechanismus des JACOBSONSchen Organs.

BROMAN (1918a, 1920b) versuchte als erster, diese Frage praktisch zu lösen. Zunächst ließ sich feststellen, daß der Lateralwulst, der bei allen untersuchten Säugetieren vorkommt, histologisch verschiedenen Aufbau zeigt. Bei einer Anzahl von Arten ist nur eine große Vene in der Seitenwand vorhanden (Maus, Ratte, Wühlmaus, Eichhörnchen, Ziesel, Lemming, Pferdespringer, Tatusia, Schaf, Schwein, Lemur u. a.). Andere Säugetiere zeigen einen von zahlreichen kleinen Venen durchsetzten Schwellkörper (*Trichosurus vulpecula* KERR, *Talpa*, *Lagostomus*, Kaninchen, Meerschweinchen). Bisweilen sind die Bildungen auf Schnittpräparaten im kontrahierten Zustand zu beobachten. Die betreffende große Vene besitzt eine so kräftige Media, daß der Eindruck einer Arterie erwächst. „Daß eine solche Vene sich bis zum vollständigen Verschwinden ihres Lumens kontrahieren kann, dafür haben wir in der für die Erektion so wichtigen Vena dorsalis penis subfacialis des Menschen ein Beispiel“ (BROMAN).

Auf Grund der histologischen Verhältnisse ist anzunehmen, daß die Organwand erektil wie kontraktile sein kann. Das Einsaugen von Flüssigkeit aus der Umgebung der Organmündungen würde möglich sein, wenn sich die glatte Muskulatur in der lateralen Wand verkürzt (*Kontraktionsphase*). Dabei werden passiv die Lumina der Vene oder der Venenlakunen zusammengedrückt. Vielleicht kann auch die Venenwandung selbst diesen Vorgang aktiv unterstützen. Der Effekt wäre eine Kontraktion des gesamten Lateralwulstes und eine Aufnahme von Flüssigkeit über das Maß der Ruhefüllung hinaus. Schon geringe Kontraktionsbewegungen können eine Reizwirkung gewährleisten, da von der Mündungsstelle bis zum Ende des Organschlauches die mediale Wand mit Sinnesepithel ausgekleidet ist. Vielleicht ist unter diesem Gesichtspunkt überhaupt die röhrenförmige Gestalt des Organs als funktionelles Merkmal zu deuten. In der *Erektionsphase* aber würde eine erhöhte Blutfüllung der Schwellkörpergefäße das Lumen des Organs verengen und den Organinhalt beschleunigt hinausdrücken. Die einzelne Vene sowohl als auch das von vielen kleinen Lakunen durchsetzte Schwellgewebe müssen den gleichen Effekt bewirken. Die organeigenen Drüsen spielen eine wichtige Rolle, da sie nach und nach das Organlumen wieder mit indifferentem Sekret anfüllen. Muskulatur und Schwellkörpergefäße können also im Pumpmechanismus als Antagonisten wirken. Über den Wechsel und die Geschwindigkeit dieser Erscheinungen in der Zeit läßt sich ohne direkte Beobachtung nichts aussagen. Am in situ befindlichen Organ sind aber bisher nur ganz vereinzelte Untersuchungen durchgeführt. Bei der Wirkung des Pumpmechanismus ist die Knorpelkapsel, die das Organ teilweise

umhüllt, nicht ohne Anteil. Sie hindert die angrenzenden Weichteile, das Organ zusammenzudrücken. Auch HAMLIN (1929) stellt die wichtige Bedeutung der Skeletkapsel heraus, die womöglich dazu dienen kann "to facilitate a rise in internal pressure by preventing the expansion of the JACOBSON's organ at the time this pressure is being developed, thereby favoring the more complete ejection of its contents".

Als erste und wichtigste Feststellung am überlebenden Organ muß die Tatsache gelten, daß die Lumina normalerweise eine seröse Flüssigkeit enthalten und nicht Luft (BROMAN 1920b; KERKHOFF 1924). Reizstoffe werden dem Sinnesepithel also durch ein wäßriges Medium zugeführt. Sie stammen aus der Nasenhöhle. Das heißt, das Ein-saugen von duftgesättigtem Schleim aus den *Nasendrüsen*

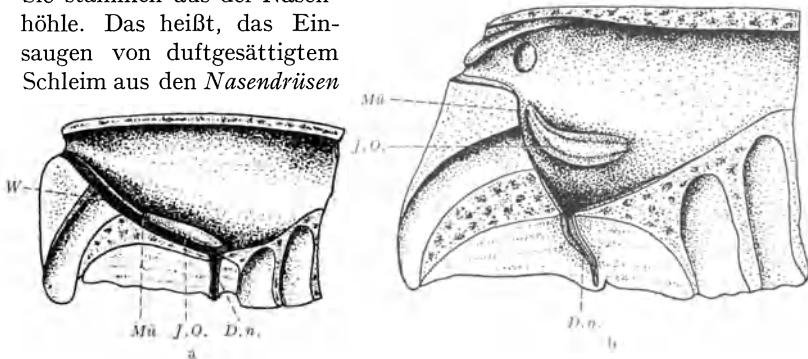


Abb. 3a und b. *Myocastor coypus* MOL. (a), *Hydrochoerus capybara* ERXL. (b). Verlauf der Nasenrinne im Verhältnis zum JACOBSONSchen Organ. a Drüsiger Gewebstreifen (W) und JACOBSONSches Organ (J. O.) gehen parallel mit dem Nasenboden, der auf diese Weise „überdacht“ wird. b Wenigstens die Mündung des JACOBSONSchen Organs liegt an der Nasenrinne, die hier ziemlich steil abfällt. D. n. Ductus nasopalatinus, Mü Mündung des JACOBSONSchen Organs. Nach LAUTENSCHLAGER 1934.

oder das Wiedereinsaugen des *organeigenen*, nun mit Geruchsstoffen beladenen Sekrets sind *eine* Möglichkeit, dem Sinnesepithel den adäquaten Reiz zu vermitteln. (Eine weitere Möglichkeit s. weiter unten). Die topographischen Besonderheiten der Nase erleichtern dem Sekret gewissermaßen den Zutritt zur Mündung des JACOBSONSchen Organs. „Die schmale Rinne, die durch Zusammenschluß der beiden Nasenhöhlenwände gebildet wird, und in die das JACOBSONSche Organ mündet, ist allein durch ihr Gefälle schon geeignet, dem Organ von der Gegend der Nasenöffnung Geruchssekret zuzuführen“ (Abb. 3). „Auf diesem Wege bewegt sich das zu prüfende Sekret auch in gleicher Richtung mit dem Sekretstrom der Nasenhöhlendrüsen“ (LAUTENSCHLAGER 1934). Die Rinne beginnt direkt an der Nasenöffnung. Gerade bei Nagetieren, deren JACOBSONSche Organe gut ausgebildet sind, überdacht bisweilen (Sumpfbiber, Bismarrratte, Eichhörnchen) das JACOBSONSche Organ selbst und ein nach vorn daran anschließender drüsiger Gewebstreifen die Nasenbodenrinne und „kann dadurch evtl. eine Verdünnung des Geruchssekrets durch das übrige Nasenhöhlensekret vermeiden.“

Tabelle 1. Versuche über das Eintreten von Partikeln in die JACOBSONSchen Organe. (B) = BROMAN 1920, (K) = KERKHOFF 1924.

Versuchstier	Versuchsbedingungen	Versuchsbefund
1. <i>Cavia cobaya</i> L. juv. (B)	Tuschelösung in <i>rechte</i> Nase eingebracht. Tier in nachfolgender Narkose getötet.	Das ganze <i>rechte</i> Organ mit Tusche erfüllt. Ebenso der <i>rechte</i> STENSONSche Gang. Aber auch das <i>linke</i> Organ und der <i>linke</i> STENSONSche Gang enthalten, wenn auch schwächer, Tusche.
2. <i>Cavia cobaya</i> L. ad. (B)	Tuschelösung in <i>linke</i> Nase. Nach 15 Minuten narkotisiert und getötet.	Kein Befund am JACOBSONSchen Organ.
3. <i>Cavia cobaya</i> L. juv. (B)	Wie 1., aber durch <i>Ersticken</i> getötet.	Kein Befund am JACOBSONSchen Organ.
4. <i>Oryctolagus cuniculus</i> L. ad. (B)	Wie 3.	Kein Befund am JACOBSONSchen Organ.
5. <i>Canis familiaris</i> L. (Alter Foxterrier) (B)	Tusche in <i>linke</i> Nasenhöhle eingebracht. Nach 2 Minuten in Narkose getötet.	<i>Linkes</i> JACOBSONSches Organ vollständig mit Tusche erfüllt. Ebenso der <i>linke</i> STENSONSche Gang.
6. <i>Canis familiaris</i> L. (Alter Dachshund) (B) (Im folgenden handelt es sich um Schlachtpferde.)	Tusche in <i>linke</i> Nase eingebracht. Nach 5 Minuten in Narkose getötet.	Kein Befund am JACOBSONSchen Organ.
7. <i>Equus caballus</i> L. (2 Tiere) (K)	Tuschelösung in beide Nasen. Nach 5 Minuten getötet.	Kein Befund am JACOBSONSchen Organ.
8. <i>Equus caballus</i> L. (3 Tiere) (K)	Tuschelösung mit Äther untermischt in beide Nasen.	Beide JACOBSONSchen Organe vollständig mit Tusche erfüllt.
9. <i>Equus caballus</i> L. (2 Tiere) (K)	Wie 8.	Kein Befund am JACOBSONSchen Organ.
10. <i>Equus caballus</i> L. (2 Tiere) (K)	Wie 8., 1:30 Minuten vor dem Tode.	Beide Organe zur Hälfte mit Tusche erfüllt. Die blinden Enden enthalten Drüsensekret.

Das Eintreten von Partikeln aus dem Nasenraum in die JACOBSONSchen Organe ist durch Versuche belegt worden (BROMAN 1920b; KERKHOFF 1924; LAUTENSCHLAGER 1934). Die Übersicht über diese Versuche, die darin bestanden, Tuschelösung in die Nasen einzubringen und ihrem Verbleib dann an Schnittpräparaten nachzuforschen, gibt die Zusammenstellung in Tabelle 1. Hier sind auch alle näheren Umstände aufgezeigt. Die Ergebnisse erweisen, daß die JACOBSONSchen Organe die mit Tusche-partikeln durchsetzte seröse Flüssigkeit aus der Nasenhöhle aktiv einsaugen können (Abb. 4). Das geschieht aber offenbar *nur*, wenn ein Geruchsstoff (Äther, bei BROMAN zugleich Narkosemittel) gleichzeitig

geboten, der Nasensinn also alarmiert wird. Das Tier muß für einen Geruchsstoff Interesse bekommen. LAUTENSCHLAGER konnte diese Erscheinung an *Cavia cobaya* L. bestätigen.

Die Möglichkeit des Aus- und Einpumpens von Sekret allein durch den *Schwellmechanismus* (Erektionsphase) hat HAMLIN (1929) am Kaninchen experimentell erwiesen. Dazu wurde der Blutdruck der Versuchstiere während Äthernarkose durch Adrenalingaben erhöht und die Mündung des JACOBSONSchen Organs beobachtet. Die Zunahme des

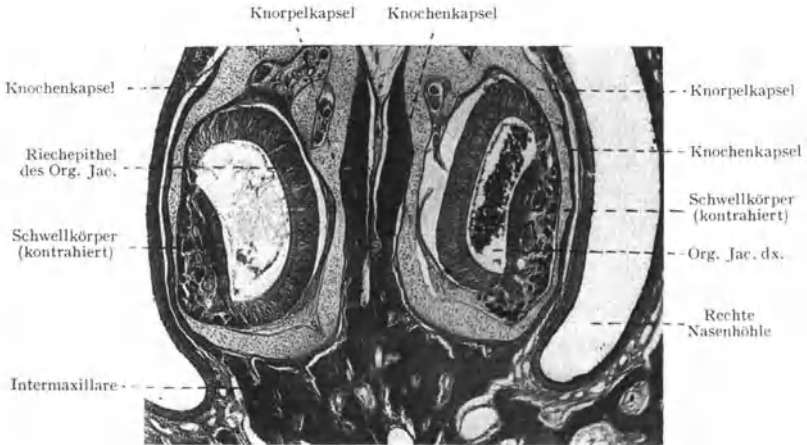


Abb. 4. *Cavia cobaya* L. Frontalschnitt durch die JACOBSONSchen Organe. Zu vergleichen ist der Text zu Experiment 1 in der Tabelle 1. Im rechten Organ sehr deutlich, im linken schwächer, Tuschepartikel. AUS BROMAN 1920b. (Vergr. 25fach.)

Blutdrucks ließ sich zugleich manometrisch ablesen. In allen Fällen zeigte sich bei der Erhöhung des allgemeinen Blutdrucks ein Sekrettropfen (31 Beobachtungen) oder ein Gasbläschen (4 Beobachtungen) an der Mündungsstelle des Organs. Dies geschah im allgemeinen bei einem Druck oberhalb von 94 mm Hg. Der Normaldruck unter gleichen Bedingungen (Äthernarkose, Wundfeld usw.) schwankt zwischen 90 und

Tabelle 2. *Oryctolagus cuniculus* L. Wirkung von Adrenalin auf den Pumpmechanismus des JACOBSONSchen Organs (1). (AUS HAMLIN 1929.)

Number of positiv Demonstrations	Material expelled	Size of Adrenalin Dose (1:50000 Dilution) ccm	Mean carotid Pressure at time of Expulsion of Gas or Liquid mm Hg
21	Liquid	0,5—1,5	110—146
3	„	0,75	70—94—104
7	„	0,75—1,0	1
4	Air	0,75	68—80—94—110

¹ Exact point of expulsion not indicated on records.

105 mm Hg. In einigen Fällen wurde die Erscheinung schon innerhalb der Normalgrenzen beobachtet. Es ist aber, wie es auch Tabelle 2 erweist, kein Zweifel darüber, daß der Blutdruck auf den Füllungsgrad des JACOBSONSchen Organs Einfluß nimmt. Ob das in dieser Art und in diesem Ausmaß auch unter natürlichen Bedingungen statthat, läßt sich allerdings nicht entscheiden. Erwartet man das Abfallen des Experimentaldruckes wieder zum Normaldruck, dann läßt sich beobachten, wie das Sekrettröpfchen wieder eingesaugt wird (Tabelle 3). Das Lumen kehrt also wieder in den Ruhezustand zurück.

Tabelle 3. *Oryctolagus cuniculus* L. Wirkung von Adrenalin auf den Pumpmechanismus des JACOBSONSchen Organs (2). (Aus HAMLIN 1929.)

Pressure at which Drops of Liquid Appears at the Orifice mm Hg	Dose of Adrenalin (1:50000 Dilution) ccm	Pressure at which the Drop of Liquid Receded mm Hg
114	0,5	100
130	1,0	84
132	1,5	80
120	1,5	100
110	0,5	56

kann (s. oben). Unter biologischen Voraussetzungen ist es denkbar, daß dieses Sekret, wenn es sich schnell genug mit Duftstoffen beladen kann, zum größten Teil wieder eingesaugt wird, aber auch vorstellbar, daß es rasch von der Mündung weggespült wird und duftstoffreiches Sekret der Hauptnase an seine Stelle tritt. Doch sind wir über die Leistung des JACOBSONSchen Organs nicht unterrichtet und wissen nicht, unter welchen Voraussetzungen und wie schnell sich eine solche Reaktion abspielen mag.

Die andere Seite des Pumpmechanismus, nämlich das Auftreten einer Kontraktion in der lateralen Organwand, ist experimentell nicht untersucht. Dieser Teil des Problems bleibt Hypothese¹.

b) Das JACOBSONSche Organ als „Mundgeruchsorgan“.

Es ist erwiesen, daß das JACOBSONSche Organ sich innerhalb des Nasenraumes wirksam mit Geruchsstoffen versehen könnte. Es muß aber noch eine *weitere* Möglichkeit erwogen werden. Durch die STENSONSchen Gänge ist der Nasenhöhlenboden mit der Mundhöhle in Verbindung (Abb. 2 und 5). Man muß sich fragen, ob nicht auch von der *Mundhöhle* aus Geruchsstoffe an das JACOBSONSche Organ gelangen können, das Organ also auch als *Mundgeruchsorgan* in Erscheinung treten kann. Eine experimentell durchgängig gesicherte Ansicht hat man in dieser Hinsicht noch nicht gewonnen. Es wäre aber von außerordentlichem Interesse, diese Möglichkeit zu verfolgen, besonders bei jenen Säugetieren,

¹ Eine experimentelle Prüfung wäre nicht sehr schwierig.

deren JACOBSONSche Organe in die STENSONSchen Gänge einmünden. BROMAN (1920b) ist auch hier als erster eingehender und zugleich experimentell dieser Frage nachgegangen.

Die unteren Mündungen der STENSONSchen Gänge sind sehr eng, die am Nasenboden befindlichen meist weit. Nur gelegentlich münden die STENSONSchen Gänge gegen die Mundhöhle blind (z. B. Pferd). Zwischen

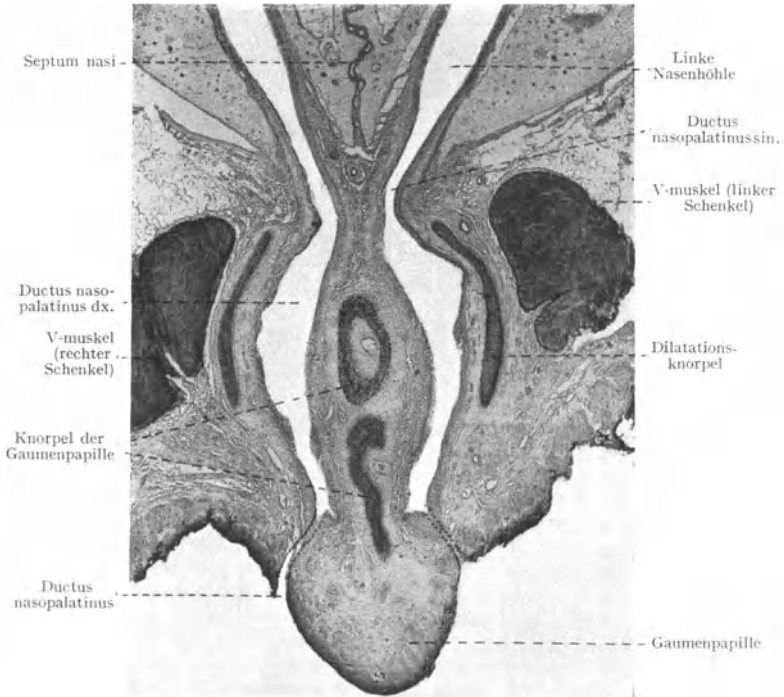


Abb. 5. *Cavia cobaya* L. Frontalschnitt durch die STENSONSchen Gänge und die Gaumenpapille eines erwachsenen Meerschweinchens. Die Elemente des „Verschlußmechanismus“ sind deutlich. Aus BROMAN 1920b. (Vergr. 25fach.)

den unteren Öffnungen befindet sich die Gaumenpapille. Ein Druck gegen dieses verschieden entwickelte Gebilde (etwa durch die Zunge) schließt die STENSONSchen Gänge von der Mundhöhle ab. Die Gänge selbst können mehr oder weniger von Knorpel umgeben sein. Die Funktion dieser Knorpelbildungen scheint darin zu bestehen, die Lumina der Kanäle offen zu halten.

Daneben gibt es aber ausgesprochene Verschlußmechanismen. BROMAN erwähnt bei Nagetieren unter den Weichteilen, welche die STENSONSchen Gänge umgeben, zwei große Fettkörper, die sich in den vorderen Teil des Gaumens herab ausdehnen. Bei geringstem Druck verändern sie ihre Form und könnten dazu beitragen, die Gaumengänge zusammen-

zudrücken. Bei Ratte und Maus finden sich die Voraussetzungen hierfür in einem *quergestreiften Gaumenmuskel*, der die Fettpolster bedeckt und sie durch seine Kontraktion gegen die STENSONSchen Gänge drückt, *somit die Kanäle verschließt*.

Beim Meerschweinchen wird die Knorpelhülle der Kanäle von zwei *queren* und zwei *schiefen* Muskeln derart umgeben, daß das Lumen bei der Kontraktion zusammengepreßt werden muß. Es dürfte besonders der *nasale* Anteil der STENSONSchen Gänge vollkommen verschlossen werden. Die umgebenden Knorpel sind „Dilatationsknorpel“; sie federn bei Aufhören der Kontraktion nach außen und öffnen die Kanäle wieder (Abb. 5). Beim Kaninchen sind diese Voraussetzungen am schwächsten vorhanden und für den Verschuß der Nasen-Gaumengänge wahrscheinlich ohne Bedeutung.

Bei anderen Säugetieren fehlen solche von BROMAN als Verschußmechanismen gedeutete Bildungen. Beim Rinde, von dem noch Beobachtungen vorliegen, kann unter Umständen die *Zunge* helfen, um die *nasalen* Mündungen der STENSONSchen Gänge abzuschließen. Bei dieser Art ist nämlich die hintere obere Hälfte der Gänge leicht komprimierbar (etwa 3—4 cm hinter der Gaumenpapille). Da beim Rinde die JACOBSONSchen Organe in die *untere* Hälfte der Gaumenkanäle einmünden, könnten sie durch Zungendruck vorübergehend von der Nase abgeschlossen werden, also nur auf das Mundhöhlengebiet beschränkt sein. Unter diesen Voraussetzungen könnten die JACOBSONSchen Organe des Rindes „also beim Einsaugen das flüssige, die Riechstoffe enthaltende Medium ganz und gar von der Mundhöhle holen“.

Unter den von BROMAN an Nagetieren angestellten Experimenten über den Verbleib von in die Mundhöhle eingebrachten Tuschepartikeln war keines mit positivem Ausgang dahingehend, daß Tusche in den STENSONSchen Gängen oder gar im JACOBSONSchen Organ nachweisbar gewesen wäre. Nur der in Tabelle 1 (1.) wiedergegebene Versuch, der unter gänzlich anderen Bedingungen angestellt wurde, ergab überraschenderweise einen positiven Befund im Sinne der Hypothese (vgl. nochmals Abb. 4).

Die Nagetiere sind von LAUTENSCHLAGER (1934) in einer vergleichenden Studie in dieser Hinsicht genauer behandelt worden. Versuche am Meerschweinchen verliefen durchgängig ohne Ergebnis. Auf Grund der topographischen Beziehungen zwischen Nasen- und Mundhöhle bei Nagetieren kann es kaum als möglich angesehen werden, daß Riechstoffe über die STENSONSchen Gänge an das JACOBSONSche Organ gelangen. Die größte Schwierigkeit erwächst dieser Vorstellung allein dadurch, daß *im allgemeinen* die Mündung des JACOBSONSchen Organs „weit“ vor der nasalen Öffnung der Gaumengänge liegt und das Geruchssekret sich *gegen* den dauernd zur Mundhöhle gerichteten Sekretstrom aus den Nasenhöhlendrüsen bewegen müßte (vgl. Abb. 6 und nochmals Abb. 3). Denn der Pumpapparat des JACOBSONSchen Organs kann nur

aus unmittelbarer Nähe der Mündungsstelle Sekret beibringen (vgl. auch HAMLIN).

Die Bedeutung der STENSONSchen Gänge, die bei Nagern an einer vertieften Stelle des Nasenbodens entspringen (vgl. Abb. 3 und 6) liegt wohl in erster Linie darin, eine Sekretstauung in der Nähe der JACOBSONSchen Organe zu vermeiden. Ein „Saugen“ an der Gaumenpapille kann diese Aufgabe noch unterstützen. Diese Aufgabe dürfte auch bei anderen Säugetieren die wahrscheinlichste sein. Der vorübergehende Abschluß der unteren Gangöffnungen durch Zungendruck oder der oberen durch besondere Verschlößmechanismen kann zu einer Unterbrechung des Sekretstromes zur Mundhöhle führen, was für die Leistung des JACOBSONSchen Organs als Spürsinnorgan bedeutsam sein müßte,

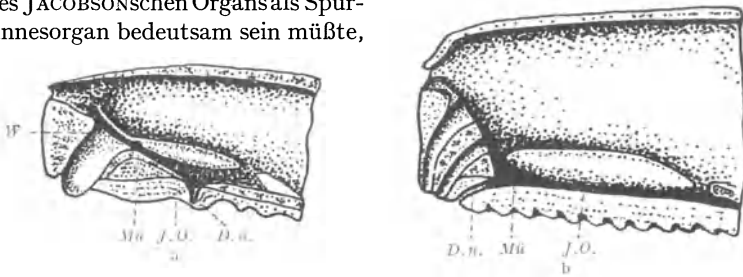


Abb. 6 a und b. *Fiber zibethicus* L. (a), *Oryctolagus cuniculus* L. (b). Die topographischen Beziehungen zwischen Mündung des JACOBSONSchen Organs und nasaler Öffnung der STENSONSchen Gänge sind dargestellt. a Die beiden Gebilde sind fast um Organlänge voneinander entfernt. b Hier liegen die beiden Bildungen „aufeinander“, eine Ausnahme bei Nagetieren. Erklärungen wie Abb. 3.

Nach LAUTENSCHLAGER 1934.

da es sich „für eine intensivere Prüfung des Geruchssekrets günstig auswirken kann“.

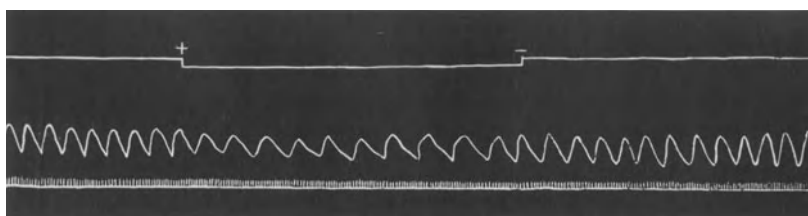
Am ehesten kann bei solchen Säugetieren mit einer Funktion als Mundgeruchsorgan gerechnet werden, wo das JACOBSONSche Organ mit seiner Mündung gleichsam in den STENSONSchen Gang gegen die Mundhöhle herabgewandert ist. Mit Ausnahme des Rindes sind die Verhältnisse unter diesem Gesichtspunkt aber noch nicht betrachtet worden.

Ein Zubringen von Geruchsstoffen aus der Mundhöhle an die JACOBSONSchen Organe über die STENSONSchen Gänge ist also *nirgendwo erwiesen*, wie es scheint, für viele Säugetiere auch *nicht wahrscheinlich*. Doch sind noch nicht alle experimentellen Möglichkeiten erschöpft und nach vergleichenden biologischen Gesichtspunkten ist überhaupt nichts unternommen worden. Eine endgültige Beurteilung ist deshalb noch nicht am Platz.

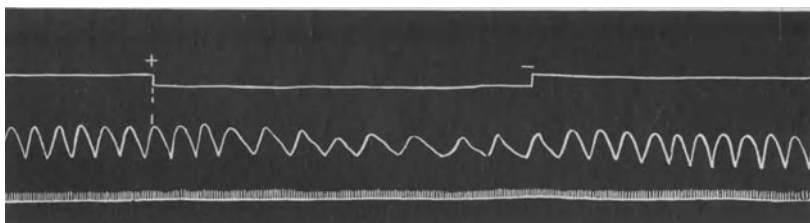
c) Über die Bedeutung des JACOBSONSchen Organs.

Auf Grund der vorliegenden Untersuchungen hat man dem JACOBSONSchen Organ eine wichtige Bedeutung zugeschrieben, ohne sie indessen näher erwiesen zu haben (SEYDEL 1895: Organ zur Wahrnehmung von Gerüchen aus der Nahrung, die über die Choanen zugeführt werden;

v. MIHALKOVICS 1899: Organ zur Wahrnehmung des Sexualgeruchs; BROMAN 1920b: Mundgeruchsorgan und Spürsinnesorgan; MILSTEIN 1929a: Spürsinnesorgan). Daß das JACOBSONSche Organ überhaupt einer Geruchsperzeption dient, ist durch den Besitz von Sinnesepithel erwiesen sowie durch die Innervierung vom Nervus olfactorius. MATTHES (1932b) konnte am Meerschweinchen zeigen, daß die Reizschwelle für bestimmte Riechstoffe nach operativer Ausschaltung des JACOBSONSchen Organs unverändert blieb. Es ließ sich zugleich zeigen, daß auch sexuelle Gerüche weiterhin wahrgenommen wurden. Die Ausschaltung des



a



b

Abb. 7a und b. *Oryzolagus cuniculus* L. Die durch einen olfaktorischen Reiz bedingte Abänderung der Atemkurve (a) tritt nach Ausschaltung des JACOBSONSchen Organs verspätet ein (b). + Der Reiz wird geboten, — der Reiz wird durch Frischluft ersetzt. Aus MILSTEIN 1929b.

Organs beschränkt also beim Meerschweinchen das geruchliche Leistungsvermögen *nicht*. Andererseits fand MILSTEIN (1929b) beim Kaninchen, daß die durch bestimmte olfaktorische Reize bedingten Abänderungen der Atemkurve nach Ausschaltung des JACOBSONSchen Organs (Verstopfen seiner Mündung) bis zu 2 Sekunden *verspätet* auftraten (Abb. 7). Auf Grund dieser Ergebnisse müßte man annehmen, daß das JACOBSONSche Organ für gewisse Stoffe schneller anspricht als die Hauptnase, daß das JACOBSONSche Organ „le récepteur le plus périphérique des substances olfactives“ ist. Über die Beziehungen zwischen den Leistungen der Nase und des JACOBSONSchen Organs ist gar nichts bekannt. Auf Vermutungen (BROMAN u. a.) einzugehen, ist überflüssig.

Nach ökologischen Gesichtspunkten hat LAUTENSCHLAGER (1934) einige Nagetiere (Wassernager und Landnager) durchmustert. Wesentliche morphologische Unterschiede, die auf Unterschiede in der biologischen Leistung hinweisen könnten, wurden nicht beobachtet. Für

Wassernager könnte das JACOBSONSche Organ zur direkten Prüfung der geruchlichen Eigenschaften des Wassers beim Nahrungserwerb eine Bedeutung erlangen. Man kann aber auch schließlich annehmen, daß das JACOBSONSche Organ nur für ganz bestimmte Stoffe funktionsbereit ist, „zu deren Prüfung die Regio olfactoria überhaupt nicht geeignet ist“.

So wissen wir also über die Sonderfunktion des JACOBSONSchen Organs bei Säugetieren *nichts Endgültiges*. Es ist anscheinend notwendig, sich zunächst einmal ein besseres Bild über die Geruchsbiologie der verschiedenen Säugetiere zu verschaffen. Dabei können auch experimentelle Untersuchungen helfen. Nur ein gesichertes Wissen vom Geruchssinn und seinen besonderen Leistungen kann die Basis geben für eine neue und hoffentlich weiterführende Erforschung des Funktionsbereiches und vielleicht auch des Funktionsumfanges des JACOBSONSchen Organs.

C. Die Funktion des Jacobsonschen Organs bei den Reptilien.

Nur unter den Schuppenkriechtieren (*Squamata*) ist das JACOBSONSche Organ gut entwickelt, wenn man von den Chamäleonen (*Rhoptoglossa*) absieht. Es ist verkümmert oder bildet sich mehr oder weniger zurück bei den Schildkröten (*Testudinata*). Bei den Panzerechsen (*Emydosauria*) ist es nur auf frühen Embryonalstadien vorhanden und fehlt später zur Gänze.

1. Morphologische Bemerkungen über das Jacobsonsche Organ der Squamata: Echsen (Lacertilia) und Schlangen (Ophidia).

Im großen und ganzen ist das JACOBSONSche Organ dieser Reptilienordnung morphologisch bekannt. Vergleichend-anatomische Untersuchungen auf funktioneller Basis fehlen aber sowohl bei Echsen wie bei Schlangen. Während dieses Organ bei den einzelnen Echsen Gruppen wenigstens in großen Zügen untersucht ist, kennt man bei Schlangen nur einzelne Vertreter genauer. Besonders die Wasserschlangen sind in dieser Richtung bekannt geworden (KATHARINER 1900). Es ist hier aber nicht notwendig, auf Einzelheiten einzugehen. Es genügt, die an sich unkomplizierten Tatsachen zu streifen, zumal das, was zum Verständnis des Folgenden notwendig ist, mit wenigen Worten gesagt werden kann.

Bei Squamaten entsteht das JACOBSONSche Organ als seitliche, mehr oder weniger ventrale Ausstülpung der Nasenanlage. Mit der weiteren Entwicklung verliert das Organ im Gegensatz zu vielen anderen Wirbeltieren bei Echsen und Schlangen seine ursprüngliche Verbindung mit der Nasenhöhle und zeigt dann eine Kommunikation mit der Mundhöhle. Bei erwachsenen Tieren besteht sie ganz allgemein im vorderen Abschnitt

derselben, am vorderen Ende des Gaumens (Echsen) oder mindestens dort, wo beim Embryo die Gaumenrinne vorn endet (Schlangen)

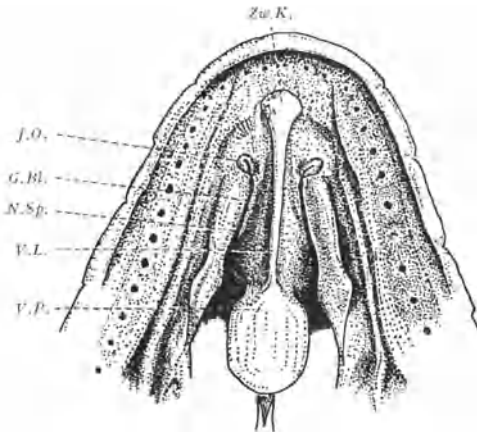


Abb. 8. *Lacerta agilis* L. Lagebeziehung zwischen Choane, Choanenspalte und JACOBSONSchem Organ. G.Bl. Gaumenblatt, J.O. JACOBSONSches Organ, N.Sp. Choanenspalte, V.L. Vomerleiste, V.P. Vomerpolster, Zw.K. Zwischenkieferknopf. Aus KAHMANN 1932 a.

bei Echsen vielfach ganz aus Knorpel, bei den Schlangen wenigstens im hinteren Abschnitt. Die dorsale Wand des JACOBSONSchen Organs trägt



Abb. 9. *Anguis fragilis* L. Querschnitt durch den Kopf einer jungen Schleiche. Die JACOBSONSchen Organe sind in Höhe der Ausführungsgänge getroffen. Einzelheiten ergeben sich aus dem Text. (Vergr. 26 fach.) Aus KAHMANN 1932 a.

fast noch bedeutender als bei Echsen. Alle einschlägigen Verhältnisse lassen sich aber unschwer aus den beigefügten Bildern ablesen (Abb. 9).

(Abb. 8). Der enge Ausführungsgang geht medial hinten vom Organ ab; in ihn hinein oder in seiner Nähe mündet die Tränendrüse aus. Das JACOBSONSche Organ liegt also unter dem Geruchsorgan und ist von diesem auch durch eine Skeletkapsel getrennt. Die mediale Wand dieser Kapsel wird vom Vomer, die dorsale vom „Riechbein“ gebildet. Bei den *Squamata* ist die lateral-ventrale Wand des Organs aufgebogen und ragt in das Lumen hinein („Concha“ oder auch „Pilzförmiger Wulst“ und „Kolbenknorpel“). Diese Wand besteht

hohes Riechepithel. Bei Schlangen hat RETZIUS (1894) die zelligen Elemente dieses Epithels genauer beschrieben. Auf dem pilzförmigen Wulst befindet sich nur indifferentes („respiratorisches“) Epithel (Flimmerepithel). Graduelle Unterschiede im Aufbau des Organs können bedeutend sein. Sie lassen sich dann fast immer funktionell verstehen. Doch können solche Einzelheiten an dieser Stelle nicht weiter berücksichtigt werden. Sie gehören vielmehr in den späteren physiologischen Zusammenhang. In allen wichtigen Punkten stimmen die einzelnen Arten überein. Die Ausbildung des Organs ist bei Schlangen

2. Experimentelle Untersuchungen über das Jacobsonsche Organ der Echsen und Schlangen.

In seiner Gesamtheit stellt also das JACOBSONSche Organ ein gut umrissenes Gebilde dar, das einen hohen Grad der Ausbildung und morphologischen Differenzierung erreichen kann. Aus diesem Grunde ist ihm von je eine hohe Funktionstüchtigkeit zugeschrieben worden, ohne daß allerdings der Versuch gemacht worden wäre, auf Grund eingehender morphologischer und experimenteller Studien diese Funktion herauszustellen. Vielmehr hat es an mehr oder weniger unzuverlässigen und übereilten Hypothesen nicht gefehlt. Erst BROMAN (1918a, 1920b) hat in bezug auf das Funktionieren des JACOBSONSchen Organs eine wohlbegründete Annahme veröffentlicht, die, selbst bis zu einem gewissen Grade experimentell, spätere Forschung anregte und damit zur Grundlage weiterer Erkenntnisse wurde. Es ist deshalb unerlässlich, hier die Vorstellungen BROMANS aufzuzeigen, um die für den weiteren Vortrag notwendigen Voraussetzungen zu schaffen.

a) Die Untersuchungen BROMANS und ihre theoretischen Folgerungen.

Das JACOBSONSche Organ ist immer mit Flüssigkeit erfüllt. Ein Schwellmechanismus, wie er in Gestalt einer Vene und eines Schwellpolsters am JACOBSONSchen Organ vieler Säugetiere nachgewiesen wurde, fehlt bei Echsen und Schlangen. Besonders fehlt auch Muskulatur, sowohl am Organ selbst als auch in seiner Nähe, die für das Aus- und Einpumpen von Flüssigkeit Bedeutung erlangen könnte. Betrachtet man die morphologischen Verhältnisse am Gaumenorgan genauer, dann ist auffällig, daß an der Skeletkapsel, die das Organ umhüllt, die untere ventrale Wand, die in das Lumen des Gebildes hineinragt, stets aus Knorpel besteht. Bei den untersuchten Echsen ist dies durchgängig, bei den Schlangen nur im hinteren Abschnitt der Fall. Die weitere Überlegung zeigt, daß ein leichter Druck gegen das Munddach die ventrale Wand des JACOBSONSchen Organs nach oben bewegen und so das Lumen verengern könnte. Beim Aufhören eines solchen Druckes müßte diese Wand in ihre Ruhelage zurückkehren, sich also wieder senken, infolgedessen das Lumen sich wieder erweitern, gleichzeitig damit aber eine Saugwirkung entstehen. Diese Vorstellung wird in der Abbildung veranschaulicht (Abb. 10). Bemerkenswert ist, daß dieser Knorpel, soweit er dem JACOBSONSchen Organ angehört, oft durch eine merkliche Verdünnung abgesetzt ist von dem Teil, der dem Maxillare nach innen zu anliegt. Diese Stelle kann geradezu wie ein „Scharniergelenk“ wirken.

Diese mit den morphologischen Tatsachen begründete Annahme konnte gleichzeitig durch Experimente am toten Tier bestätigt und insofern erhärtet werden, als sich zeigte, daß bei leichtem Sondendruck gegen die erwähnte Knorpelbasis in der Tat der Pumpmechanismus betätigt werden kann. Diese Versuche wurden ausgeführt an *Varanus*

salvator LAUR. und *Tupinambis teguixin* L., unter den Schlangen an *Python molurus* L. An allen drei Arten ließ sich die Richtigkeit der gemachten Annahme zeigen, zumindest dahingehend, daß die ventrale Organwand und damit die Concha tatsächlich beweglich sind. Als gradueller Unterschied ergab sich, daß bei *Python* „der Pumpmechanismus des Organon Jacobsoni erst bei viel stärkerem Druck (als bei den untersuchten Sauriern) funktionierte“.

Diese Vorstellungen weitete BROMAN durch folgende Gesichtspunkte aus. Der Pumpmechanismus des JACOBSONSchen Organs tritt mit großer

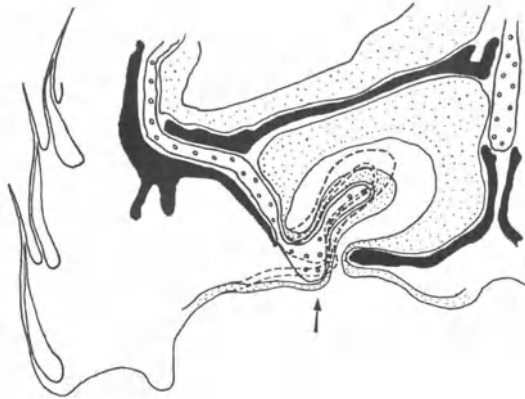


Abb. 10. *Anguis fragilis* L. Schema zur Veranschaulichung des von BROMAN angenommenen Pumpmechanismus am JACOBSONSchen Organ. Schwarze Linien Ruhestellung, gestrichelte Linien durch Beute oder Zunge bewirkte „Pumpstellung“ des Organs. Der Pfeil gibt die Richtung des wirkenden Druckes an.

■ Knochen, □ □ □ □ Knorpel, ▨ Epithelien des JACOBSONSchen Organs und der Nase.
Aus KAHMANN, 1932a.

Wahrscheinlichkeit in Tätigkeit, wenn eine Beute gepackt und verschlungen wird, da hierbei ein kräftiger Druck gegen das Munddach wirkt. So können dann leicht im Mundschleim suspendierte Geruchsstoffe aus der Beute an das Sinnesepithel des JACOBSONSchen Organs gelangen und dort wahrgenommen werden. Dadurch werden die JACOBSONSchen Organe zu „idealen Mundgeruchsorganen“.

Es ist von der morphologischen Seite aus gesehen denkbar, daß unter Umständen schon ein leichter Druck der Zunge ausreichen kann, um diese Saugwirkung hervorzubringen. Eine Wirkung der Zunge auf das JACOBSONSche Organ tritt nun möglicherweise beim *Züngeln* hervor. Daß ein solcher Gedanke an einen funktionellen Zusammenhang zwischen Zunge und JACOBSONSchem Organ nicht abwegig ist, erweisen die topographischen Beziehungen zwischen beiden Bildungen. Schon in der Ruhe ist der Zusammenhang zwischen der Zunge und den JACOBSONSchen Organen sehr eng. Die Zungenspitzen liegen stets am Munddach und „kleben“ gleichsam in den „Gaumengruben“ oder „-rinnen“, in die

hinein auch die JACOBSONSchen Organe ausmünden. Man kann sich das leicht vor Augen führen, wenn man einer Eidechse vorsichtig das Maul öffnet. Die Zungenspitzen hängen zunächst am Munddach und lösen sich erst ab, wenn man den Unterkiefer weit genug herabgezogen hat. Noch auffälliger ist der Zusammenhang bei Schlangen. Hier liegen bei vielen Arten die Zungenspitzen zwei „Polstern“ am Mundboden auf, die sich bei geschlossenem Maul nahezu ganz in die Gaumengruben einpassen (KAHMANN 1932a). Diese eigenartig engen Beziehungen werden auch aus den Abbildungen anschaulich (Abb. 11 und 12). Aus diesen Verknüpfungen kann vielleicht geschlossen werden, daß die JACOBSONSchen Organe neben ihrer Funktion als Mundgeruchsorgane gleichzeitig „Witterungsorgane“ darstellen. Die Übermittlung von Riechstoffen könnte bei den Echsen durch Auslösung des Pumpmechanismus oder Hineinfahren der Zungenspitzen in die Organe, bei Schlangen infolge der mehr starren Verhältnisse am Organ wohl nur auf letztere Weise möglich werden. Gerade bei Schlangen haben die „Zungenspitzen immer ein kleineres Kaliber als die Organmündungen“, und bei *Python* konnte BROMAN feststellen, daß sich die Zungenspitzen immer in der Nähe der Organmündungen befanden, in „welche sie mit Leichtigkeit hineingesteckt werden konnten“. Beim Züngeln also würde die Zunge dem JACOBSONSchen Organ ein Geruchsbild der Umgebung vermitteln; ihre



Abb. 11. *Anguis fragilis* L. Sagittalschnitt durch den Kopf eines jungen Tieres, um die Beziehung der Zungenspitze zum JACOBSONSchen Organ zu zeigen. Ein Druck der Zunge (bei x) soll die „Concha“ heben (nach BROMAN) und so eine Saugstellung bewirken. c Concha des JACOBSONSchen Organs, n Nasenhöhle, z Zungenspitze. (Vergr. 26fach.) AUS KAHMANN, 1932a.

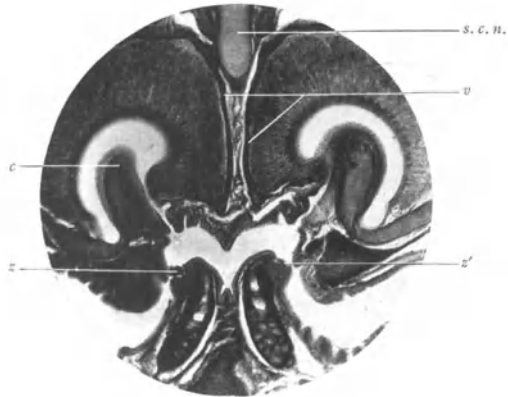


Abb. 12. *Tropidonotus natrix* L. Querschnitt durch die JACOBSONSchen Organe in Höhe der Ausführungsgänge. Bei z und z' die Zungenspitzen, die auf den Mundbodenpolstern liegen. Das Maul ist nicht fest geschlossen, die Polster liegen daher nicht ganz in den Gruben am Munddach, die die Gänge der JACOBSONSchen Organe aufnehmen. c Concha, s. c. n. Septum cart. nasi, v Vomeris. (Vergr. 48fach.) AUS KAHMANN, 1932a.

Zweispitzigkeit wäre ein funktionelles Merkmal, abgestimmt auf die Paarigkeit der JACOBSONSchen Organe. Im Hinblick auf diesen Zusammenhang könnte man in Anlehnung an BROMAN zusammenfassend sagen: Ein wichtiges Sinnesorgan der züngelnden Reptilien ist wahrscheinlich das Organon Jacobsoni. Ein notwendiges Hilfsorgan desselben als Witterungsorgan ist aber die nach außen und innen vibrierende Zunge.

Es liegt auf der Hand, daß es von besonderem Reiz sein mußte, auf Grund der von BROMAN gegebenen Tatsachen der Frage nach dem Mechanismus und nach dem Funktionsbereich des JACOBSONSchen Organs nachzugehen. Und wenn das Züngeln der Echsen und Schlangen als Ausdruck eines sinnesphysiologischen Zusammenhangs gewertet werden durfte, dann gewannen solche Fragen schon dadurch an Bedeutung, daß diese Erscheinung innerhalb der biologisch so vielgestaltigen Gruppen der Schlangen und Echsen außerordentlichen Schwankungen unterworfen ist. So finden sich beispielsweise unter den Echsen alle Übergänge von gar nicht züngelnden Formen zu solchen, deren Züngelmechanismus ausgezeichnet entwickelt ist. Unter Benutzung der BROMANSchen Gedankengänge als Arbeitshypothese waren Versuche vonnöten über die Bedeutung und den Funktionsbereich des JACOBSONSchen Organs als Geruchsorgan. Bei Berücksichtigung der weit verbreiteten Erscheinung des Züngelns war es naheliegend, daß zunächst die Bedeutung des JACOBSONSchen Organs als Witterungsorgan eingehender untersucht wurde.

b) Die Leistungen des JACOBSONSchen Organs als Witterungsorgan bei Schlangen und Echsen.

Zunächst ist das JACOBSONSche Organ als Witterungsorgan nur in seinem Leistungsbereich als Sinnesorgan überhaupt bekannt geworden. Das Vorhandensein eines morphologisch so stark differenzierten Geruchsorgans in der Mundhöhle macht die Annahme wahrscheinlich, daß ihm die Wahrnehmung spezifischer Reize zufällt. Wie weit dies zutrifft und welche Qualitäten und Quantitäten von Duftstoffen wahrgenommen werden, ist eine Frage, der bislang nicht nachgegangen worden ist. Aber auch die Kenntnis des JACOBSONSchen Organs als Sinnesorgan schlechthin ist noch keine erschöpfende, und es ist anzustreben, besonders nach ökologischen Gesichtspunkten die Leistungen und Unterschiede in der Leistung des JACOBSONSchen Organs zu vergleichen.

Die biologische Streuung, der das Gaumenorgan wie jedes Sinnesorgan unterliegt, findet einen äußerlichen Ausdruck im Züngeln, wenn man die zweite Annahme BROMANS als gegeben zugrunde legt. Das Züngeln ist unter den Squamaten aber am auffälligsten entwickelt bei Schlangen. Deshalb sollen die Schlangen zuerst eine Würdigung erfahren und im Anschluß daran erst das von Echsen bekannt gewordene vorgetragen werden.

Die Frage nach der Leistung des JACOBSONSchen Organs war von vornherein eng verknüpft mit der Frage nach der Funktion der Nase. Beide Sinnesorgane mußten als Geruchsorgane sowohl in ihrer gemeinsamen Leistung als auch in ihren Einzelfunktionen näher untersucht werden. Zu der Frage nach der Bedeutung des Geruchssinns im Leben der Schlangen haben BAUMANN (1929, *Vipera aspis* L.) und WIEDEMANN (1930, europäische Schlangen) wesentliche Vorarbeiten geleistet. Durch die Untersuchungen von KAHMANN (1932a, *Tropidonotus natrix* L.; 1934d, Vertreter aller erreichbaren Schlangenfamilien), NOBLE und CLAUSEN (1936, *Storeria dekayi* HOLBROOK u. a.) und WILDE (1938, *Thamnophis sirtalis sirtalis* L.) wurde die Kenntnis vom Geruchssinn der Schlangen ausgebaut und besonders die Sonderleistung des JACOBSONSchen Organs herausgestellt. Alle Arbeiten beschäftigen sich in erster Linie mit der chemischen Abhängigkeit von der *Nahrung*.

Die Giftschlangen, vor allem die Viperiden, waren es, die ein besonders entwickeltes Geruchsvermögen vermuten ließen. Die Beute entkommt ja nach dem Biß noch eine Strecke weit, ehe sie bewegungslos wird. Solche Schlangen müssen daher ihre Beute wirklich *suchen*. BAUMANN (1929) hat an *Vipera aspis* L. in einer Anzahl äußerst sinnvoll variierteter Versuche diese Zusammenhänge aufgezeigt. Vipern sind imstande, selbst ohne vorher einen Kontakt mit Beute bekommen zu haben, beim Herumkriechen versteckte tote Nahrung (Mäuse) aufzufinden. Das In-Beziehung-Treten zur toten Nahrung ist aber schwer und geschieht wenig rasch. Nur selten kommt es zu einem vollständigen Ablauf der ganzen Reaktionskette, wird also die Nahrung wirklich angepackt und verzehrt. Viel inniger und ausgeprägter ist das Verhalten von Vipern dem Beuteduft gegenüber, wenn sie die Beute selbst beißen oder wenigstens anfassen konnten. Dann kommt es zu einer wirklichen Nachsuche, zum Ablauf einer Suchhandlung, die im einzelnen sehr charakteristische Besonderheiten zeigt (Abb. 13). Solche Tiere lassen bald nach dem chemischen



Abb. 13. *Vipera aspis* L. Der Biß löst weite Suchbewegungen, der Geruch der versteckten Beute enge Suchbewegungen um und auf dem Kästchen aus. Herausholen der Beute nach 23 Minuten. AUS BAUMANN 1929.

Kontakt mit der Beute durch Biß „weite Suchbewegungen“ erkennen, wobei der Vorderkörper unter lebhaftem Züngeln ruckartig hin und her bewegt wird. Führen diese Bewegungen in die Nähe des Duftzentrums, dann nimmt das Bild der Suche einen anderen Ausdruck an. Es treten jetzt „enge Suchbewegungen“ auf, die Bewegungen des Kopfes sind genauer, und eine eigentümliche Form des Züngelns tritt in Erscheinung. Die Zunge wird in kurzen raschen Rucken nur noch teilweise hervor-

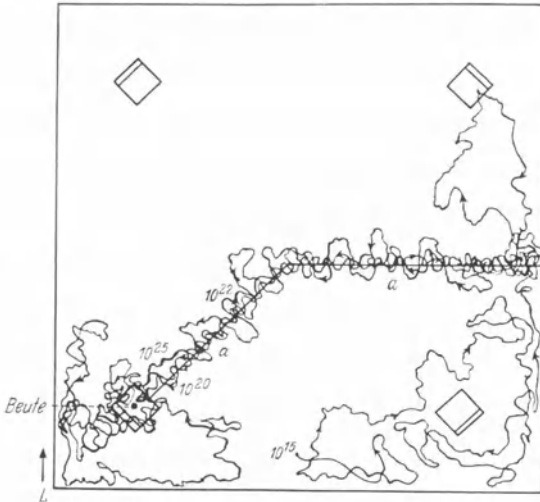


Abb. 14. *Vipera aspis* L. Versuchsbedingungen: Beißen einer lebenden Maus, Spur einer durch Biß getöteten Maus. Der Biß löst weite Suchbewegungen aus. Die Spur des toten Beutetieres wird 3mal der ganzen Länge nach verfolgt. Geruch der Beute löst enge Suchbewegungen um und auf dem Kästchen aus. Herausholen der Beute nach 10 Minuten. Aus BAUMANN 1929.

gestreckt und die Spitzen bisweilen weit gespreizt. Diese engen Suchbewegungen führen dann unmittelbar zur toten Beute, die im größten Teil der beobachteten Fälle auch angenommen wird.

Unter natürlichen Bedingungen entkommt aber die von einer Viper gebissene Beute noch ein Stück. Dabei hinterläßt sie eine Duftspur. Es lag nun nahe, zu prüfen, wie weit eine solche Spur die suchende Viper zum verendeten Raub hinleiten kann. BAUMANN konnte zeigen, wie ausgezeichnet das Vermögen, Spuren aufzunehmen und zu verfolgen, bei *Vipera aspis* L.

entwickelt ist (Abb. 14). Die Suche, deren weite Suchbewegungen das Tier zufällig auf die Spur führen, wird auf dieser selbst nur dann fortgesetzt, wenn im Augenblick des Überkriechens gerade gezüngelt wird. Auf der Spur sind die Bewegungen vorsichtig, langsam, und der Kopf wird dicht über dem Untergrund hin und her bewegt. Es wird in der erwähnten Weise ganz charakteristisch und sehr lebhaft gezüngelt. Eine solche von der Beute stammende Duftspur kann in kürzester Zeit die suchende Viper zum Ziele führen. Es ließ sich auch in diesen Versuchen bemerken, daß die Schlangen viel lebhafter und vor allem exakter suchten und angelegte Spuren verfolgten, wenn sie die Beute vorher gebissen oder wenigstens angefaßt hatten. Wie leistungsfähig der Geruchssinn ist, geht z. B. daraus hervor, daß Vipern die mit totgebissenen Mäusen angelegten Spuren leicht von den Fährten lebender unterscheiden. Haben beide Spuren einen gemeinsamen Teil, so suchen die Schlangen ohne Zögern an der Teilungsstelle

auf der Spur der gebissenen Maus weiter. Die Fährte des lebenden Tieres lockt sie nicht.

In einigen Fällen konnte beobachtet werden, wie neben dem Züngeln kurze, ruckartige Atembewegungen auftraten, über deren Bedeutung nichts ausgesagt werden kann. Es ist aber nicht unwahrscheinlich, daß sie mit der Geruchspertzeption in Zusammenhang stehen können.

Vipera aspis L. besitzt also einen hervorragend entwickelten Geruchssinn. Ob und inwieweit beide Geruchsorgane Träger der Geruchsleistungen sind, wurde nicht entschieden. Doch scheinen die vorliegenden Beobachtungen dafür zu sprechen, daß „die Zunge im Dienste der Geruchswahrnehmung steht und Reizstoffe an das JACOBSONSche Organ zu übermitteln hat“.

Bei Nattern (*Colubridae*) hat WIEDEMANN (1931) zum erstenmal auf den Geruchssinn aufmerksam gemacht und durch eine Reihe von Beobachtungen aufgezeigt, daß auch bei dieser biologisch so vielseitigen Schlangengruppe ein deutliches geruchliches In-Beziehung-Treten zur Nahrung beobachtet werden kann. Auf den ersten Blick scheint diese Schlangengruppe überwiegend optisch geleitet zu sein. In vielen Fällen wird die Beute überdies gleich festgehalten und so am Entkommen gehindert. Trotzdem läßt sich bei sehr vielen Formen ein klares Geruchsvermögen erweisen. Für die Ringelnatter (*Tropidonotus natrix* L. 1932a) und für typische Vertreter anderer Gattungen (*Coluber longissimus* LAUR., *Coronella austriaca* LAUR., *Tarbophis fallax* FLEISCHM., *Coelopeltis monepessulana* HERM., *Oxybelis fulgidus* DAUD., *Naja tripudians* MERR. 1934c) sowie für einige Vipern (*Vipera berus* L., *Lachesis atrox* L. und *Crotalus horridus* L. 1934c) konnte KAHMANN unter experimentellen Bedingungen die feineren Leistungen des Geruchssinns erweisen.

An der Ringelnatter wurden Versuche über das Geruchsvermögen im einzelnen durchgeführt. Zum ersten Male wurde gleichzeitig die Leistung von Nase und JACOBSONSchem Organ getrennt dargestellt. Ringelnattern werden im allgemeinen durch das Auge auf eine Beute (Frösche) aufmerksam. Sie fahren der Beute nach, packen sie und verzehren sie sogleich. Es hat sich aber gezeigt, daß auch unbewegliche oder tote Beute einen Reizwert für die Nattern besitzt, auch dann, wenn die Versuchstiere geblendet waren. Dieser Reizwert kann nur ein geruchlicher sein. Schon eine hungrige, aber ungeritzte Natter kann einen toten Frosch mit dem Geruchssinn lokalisieren und auch packen. An einer so zufällig gefundenen Nahrung läßt sich ein höherer Erregungsgrad, der sich in lebhaftem Züngeln ausdrückt, erkennen. Hat eine Natter einen Frosch aber vorher gepackt, der ihr dann fortgenommen und getötet in den Versuchskasten gelegt wird, so sucht sie in einer Weise und unter Erscheinungen, die sich zwanglos mit denen an *Vipera aspis* L. vergleichen lassen. Es hat sich weiter zur Überraschung gezeigt, daß Ringelnattern unter experimentellen Bedingungen auch eine Beutespur aufnehmen und verfolgen (Abb. 15). Sie können also etwas

leisten, was sie im Freiland niemals oder zumindest doch nicht notwendig zu leisten haben. Weite und enge Suchbewegungen bestimmen auch auf der Spur das Suchbild, und ein lebhaftes ununterbrochenes Züngeln scheint auch hier den Zusammenhang mit dem Spurduft zu wahren.

Auf Grund der dargestellten Erkenntnisse ließ sich nun der Frage nach der Beteiligung von Nase und Gaumenorganen an der geruchlichen Orientierung nachgehen. Als Untersuchungsobjekt diente weiterhin die Ringelnatter, an der zuerst die Sonderfunktion des JACOBSONSchen Organs herausgestellt wurde.

Schaltet man einer geblendeten Ringelnatter die Nase durch festes Verstopfen der Nasenlöcher aus, so ist sie auch dann noch imstande, tote Beute (Frösche) aufzufinden. Es zeigen sich bei der Nachsuche

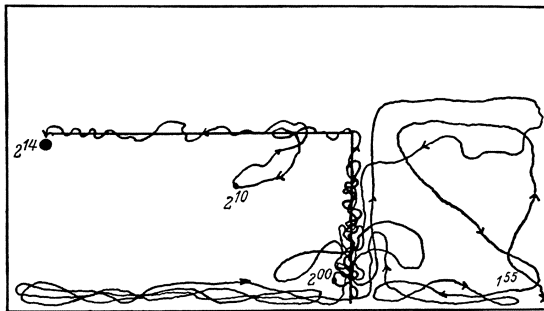


Abb. 15. *Tropidonotus natrix* L. Nach vorherigem Anfassen der lebenden Beute Spur und tote Beute im Versuchskasten zu suchen. Vollständige Lösung der gestellten Aufgabe. Nur geringe weite Suchbewegungen. Aus KAHMANN 1932 a.

besonders bezüglich des Züngelns alle die beschriebenen Einzelheiten. Es genügt sogar schon Beuteduft *allein, ohne* zusätzliche Reize, wie sie sich aus dem Anpacken der Nahrung ergeben, um eine Natter zur Suche zu bringen. Auch das Vermögen, Spuren zu verfolgen, ist unbeeinträchtigt, wenn es auch in einer Anzahl Versuche nur zu einem abschnittswise Verfolgen der Spur kam. Alle diese Versuche weisen also in eine Richtung: sie erweisen die Beteiligung des JACOBSONSchen Organs an der Chemorezeption.

Um nun zu zeigen, in welchem Ausmaß das JACOBSONSche Organ als leitendes Sinnesorgan in Betracht kommen kann, wurde bei den Versuchsschlangen das Organ kauterisiert. Lage- und Mündungsverhältnisse gestalten einen solchen Eingriff leicht und sicher. Trotz der jetzt möglichen Nasenorientierung zeigten die operierten Schlangen alle das gleiche Verhalten und kamen nicht zum Auffinden und Annehmen der Beute (Abb. 16). Das Züngeln der außerdem geblendeten Versuchsnattern war nicht wesentlich anders als das normaler ungestörter Tiere. Nach vorherigem Anpacken der Beute ergab sich zwar ein weitschweifiges Herumkriechen, weiten Suchbewegungen ähnlich, doch fehlten die geringsten Orientierungsbewegungen an der Spur wie in Beutenähe oder

an der Beute selbst. Die Unterschiede werden am besten deutlich, wenn man das beigefügte Versuchsdiagramm vergleicht mit jenem von normalen Tieren, bei denen die JACOBSONSchen Organe erhalten waren. So zeigen denn diese Versuche, welche wichtige Bedeutung dem JACOBSONSchen Organ als Geruchsorgan zukommt, aber auch, wie wenig wesentlich die Nase als Sinnesorgan zu sein scheint (s. auch weiter unten).

NOBLE und CLAUSEN (1936) bestätigen unter ähnlichen Bedingungen an *Storeria*, *Thamnophis* und anderen Schlangen die Bedeutung des JACOBSONSchen Organs als Geruchsorgan, schreiben ihm aber eine

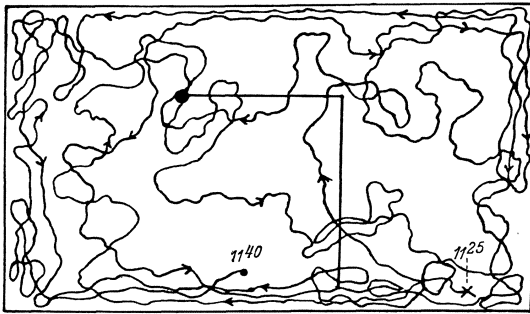


Abb. 16. *Tropidonotus natrix* L. Das JACOBSONSche Organ ist durch Kauterisieren ausgeschaltet. Spur und tote Beute, die zuvor angefaßt wurde, im Versuchskasten. Intensives Herumkriechen, häufiges Überkriechen der Spur, aber keine Reaktionen, weder auf Spur noch an Beute. Aus KAHMANN 1932a.

akzessorische Bedeutung zu. Auch hier sind die Versuchstiere imstande, mit dem JACOBSONSchen Organ *allein* eine Beutespur sicher zu verfolgen.

Daß die gewonnenen Ergebnisse trotz der inexakten Ausschaltung der Nase durch Verkleben in der von KAHMANN erörterten Weise zu deuten sind, erweist die neue Untersuchung von WILDE (1938) an *Thamnophis sirtalis sirtalis* L. An dieser Schlange konnte unter exakter nervöser Isolierung der Nase oder Gaumenorgane durch Nervendurchtrennung gezeigt werden, daß nur die JACOBSONSchen Organe der Beute gegenüber als Geruchsorgane funktionieren und der Nase gar keine Bedeutung zukommt. Auf weitere interessante Einzelheiten wird noch einzugehen sein.

Nachdem sich auch an anderen Nattern und Vipern (s. die Aufzählung) die prinzipielle Übereinstimmung mit den Befunden an der Ringelnatter ergeben hat, darf man wohl auch die Befunde BAUMANNs im gleichen Sinne deuten. Somit darf man bei vielen Schlangen die JACOBSONSchen Organe als die führenden Geruchsorgane ansprechen, ja, bei manchen Arten in vielleicht (!) weiten Bezirken des individuellen Lebens die JACOBSONSchen Organe als die führenden Sinnesorgane bezeichnen.

Es war nun wichtig, in Erfahrung zu bringen, in welchem Umfang das JACOBSONSche Organ bei den *Echsen* als Sinnesorgan in Erscheinung tritt. Bei diesen Reptilien beobachtet man hinsichtlich des Züngelns wesentliche Unterschiede. Den Schlangen am ehesten vergleichbar werden die großen Echsen aus den Familien *Varanidae* und *Tejidae*. Deutlich schwächer ist das Züngeln bei *Heloderma*, Anguiden und Lacertiden entwickelt. Anscheinend ist bei Vertretern der Lacertiden diese Lebenserscheinung am schwächsten ausgeprägt. Bei anderen Echsen beobachtet man Züngeln überhaupt nicht. Zu dieser biologischen Gruppe gehören Geckoniden, viele Agamiden und Iguaniden, *Zonurus*, Chamäleon u. a. Wird einmal Züngeln bei der einen oder anderen Art beobachtet, dann nur gelegentlich und wahrscheinlich nicht mehr in dem Maße als Ausdruck für den hier aufgezeigten sinnesphysiologischen Zusammenhang. Hierher gehört auch das allen Reptilienliebhabern bekannte plötzliche, aber nur ganz gelegentlich zu beobachtende Hervorstrecken und Gegen-den-Boden-Pressen der Zunge bei vielen Agamen und Leguanen, das mit Züngeln gar nichts mehr zu tun hat.

Die Art, wie das Züngeln bei den Echsen in Erscheinung tritt, ließ auf eine ungleiche Bedeutung des JACOBSONSchen Organs und damit auf leichter erkennbare graduelle Unterschiede schließen. NOBLE und KUMPF (1936, *Ameiva exsul* COPE) und KAHMANN (1939f, *Ameiva surinamensis* LAUR., *Ophisaurus apus* PALL. und *Acanthodactylus scutellatus* AUD.) haben diese Verhältnisse bei Echsen untersucht.

An allen bisher berücksichtigten Echsenarten (es sind dies leider erst sehr wenige) konnte gezeigt werden, daß nach Ausschaltung des Auges eine geruchliche Orientierung möglich ist. Diese kann auch bei gut züngelnden Echsen durch die Nase *allein* vonstatten gehen, im Gegensatz also zu den Schlangen. Alle Züngler, auch die nur schwach züngelnden Formen, können aber nach Ausschaltung der Nase mit dem JACOBSONSchen Organ den Kontakt mit der Nahrung herstellen. Die Größenordnung des Züngelns ist dabei zugleich ein Merkmal für die Leistung des Organs in der Zeit. Vertreter der Gattung *Ameiva* sind unter den Echsen hervorragende Züngler. Die bei der Suche nach Nahrung ständig in Bewegung befindliche Zunge verleiht dem Mechanismus Zunge — JACOBSONSches Organ eine *Bereitschaft für jeden Zeitpunkt*. Bei *Ameiva* ist also die Leistung des JACOBSONSchen Organs zum mindesten derjenigen der Nase ebenbürtig. Bei *Ophisaurus* gewinnt man den Eindruck, als sei die Leistung des Gaumenorgans schon mehr eine zusätzliche. Während der Suche nach der Beute gibt es längere Intervalle, während derer *garnicht* gezüngelt wird. Schaltet man die Nase aus, so daß nur noch das Gaumenorgan funktionieren kann, so bleibt auch dann die geruchliche Abhängigkeit von der Beute deutlich (Tabelle 4). Aber die experimentellen Erkenntnisse zeigen, daß unter biologischen Bedingungen der Züngelmechanismus allein nicht voll ausreichen dürfte. Nicht etwa, daß das JACOBSONSche Organ nicht mehr genügend

Tabelle 4. *Ophisaurus apus* PALL. Die Beute liegt frei im Versuchskasten. (Nach KAHMANN 1939.)

Versuchsgruppe und Art der Nahrung	Zeit, die zum Auffinden nötig war (Stunden)										Positive Wahlen %
Auge und JACOBSONSches Organ sind ausgeschaltet.											
(Schnecken)											
Ia ₁₋₁₀ 10. 1. 34	—	6	24	2	—	8	22	22	6	22	80
21. 1. 34	10	—	4	12	12	10	—	4	—	10	70
6. 2. 34	8	—	10	24	12	10	8	12	12	8	90
14. 2. 34	4	4	8	6	10	12	10	22	8	12	100
(Mäuse)											
Ia ₁₋₁₀ 20. 2. 34	8	8	4	8	6	22	4	22	4	8	100
4. 3. 34	6	6	4	8	6	2	—	8	4	10	90
12. 3. 34	4	6	6	8	10	8	4	2	10	—	90
20. 3. 34	6	—	8	—	4	4	8	6	10	2	80
Auge und Nase sind ausgeschaltet.											
(Mäuse)											
IIa ₁₋₁₀ 12. 1. 38	6	8	4	—	—	6	10	—	—	8	60
18. 1. 38	10	—	6	4	8	—	8	—	6	—	60
27. 2. 38	4	—	4	8	6	10	8	6	—	8	80
2. 3. 38	6	4	6	—	8	4	10	—	8	—	70
7. 3. 38	—	2	8	—	—	4	—	8	—	—	40
16. 3. 38	8	—	4	4	8	6	10	4	10	6	90

perzeptionsfähig wäre. Dagegen spricht nicht nur der positive Ausfall so vieler Versuche (66%), sondern auch die wichtige Beobachtung, daß vor dem Zupacken in fast allen Fällen gezüngelt, also mit dem JACOBSONSchen Organ geprüft wird. Vielmehr dürfte das Züngeln nicht mehr häufig genug sein, um den Kontakt mit Beute *in jedem Augenblick zu sichern*, was ja für ein seiner Nahrung nachgehendes Tier erste Voraussetzung ist. Ganz eindeutig als ein akzessorisches Sinnesorgan gekennzeichnet ist das Gaumenorgan bei dem nur gelegentlich züngelnden *Acanthodactylus*. Auch hier ist die Leistungsfähigkeit des Organs an sich nicht herabgesetzt, denn unter experimentellen Bedingungen kann es Beute wittern und auch alle Abläufe einleiten, die dann zur Aufnahme der Nahrung führen (Tabelle 5). Herabgesetzt ist lediglich noch stärker als beim Scheltopusik (*Ophisaurus*) die *Leistung in der Zeit*. Das Organ bleibt über lange Zeitspannen von der Umwelt isoliert. Was das für ein Sinnesorgan bedeutet, liegt auf der Hand. Da auch *Acanthodactylus* oft, sogar meist, vor dem Zupacken züngelt, ist dies der beste Ausdruck für die zusätzliche Leistung des Organs.

Zusammenfassend kann man also von den Echsen sagen, daß das Züngeln auch hier ein Maßstab ist für die funktionelle Bedeutung des JACOBSONSchen Organs. Das Gaumenorgan ist imstande, auch allein die geruchliche Beziehung zur Beute herzustellen. Es kann auch für

Tabelle 5. *Acanthodactylus scutellatus* AUD. Die Beute ist verscharrt. (Nach KAHMANN 1939f.)

Versuchsgruppe und Art der Nahrung	Zeit, die zum Auffinden nötig war (Minuten)										Positive Wahlen %
Auge und JACOBSONSches Organ sind ausgeschaltet.											
(Angequetschte Mehlwürmer)											
II ₁₋₁₀ 25.6.36	8	—	33	17	25	11	—	24	6	2	80
1.7.36	21	29	9	3	15	—	54	—	—	—	60
9.8.36	—	23	2	11	18	4	5	7	37	—	80
Auge und Nase sind ausgeschaltet.											
III ₁₋₁₀ 11.8.36	—	—	9	23	—	68	36	—	—	20	50
16.8.36	14	74	28	59	—	109	66	—	—	33	70
22.8.36	85	—	—	47	27	53	100	31	—	—	60

sich allein die für das Zupacken notwendigen Voraussetzungen schaffen. Dieser Aufgabe wird aber das JACOBSONSche Organ um so leichter gerecht, je vollständiger und ausdauernder der Mechanismus des Züngelns in Erscheinung tritt.

Es ist nicht abwegig, wenn hier noch kurz auf die Leistungen des Nasensinnes bei Schlangen und Echsen eingegangen wird, damit sich das Bild über die geruchlichen Fähigkeiten soweit wie möglich abrundet. BAUMANN (1929) beobachtete bei Vipern in einigen Fällen, daß „neben dem besprochenen Züngeln kurze ruckweise Atembewegungen auftraten“. Ebenso glaubt er einige Male „ein schnelles, ganz kurzes ruckweises Atmen“ direkt an der Beute feststellen zu können. Diese Beobachtungen würden „wahrscheinlich machen, daß die Viper während dieses Teiles des Suchaktes nur noch mit dem eigentlichen Geruchsorgan sucht“. In den Versuchen an der Ringelnatter ließ sich gelegentlich bei ausgeschaltetem Gaumenorgan in einem ganz kleinen Prozentsatz der Versuche dennoch eine Annahme der Beute konstatieren (KAHMANN 1932a). Auch daraus wurde auf eine unter Umständen mögliche Nasenorientierung geschlossen. Bei *Agkistrodon contortrix* L. kann man, wenn das Tier nahe genug an die Beute herangekommen ist, bisweilen heftiges Atmen beobachten, wobei nicht gezüngelt wird (KAHMANN 1934c). NOBLE und CLAUSEN finden (1936) „that in both food-seeking and companion-seeking activity, *Storeria* and *Thamnophis* are guided more by stimulations of the olfactory than by those of their JACOBSON'S organs“. Doch wurden diese Angaben wenigstens für *Thamnophis* von WILDE (1938) in seiner ausgezeichneten Studie mindestens für den Nahrungserwerb widerlegt. Es zeigt sich unmißverständlich, daß Tiere ohne JACOBSONSche Organe nicht mehr frei fressen trotz intakter Nase, sie also unmöglich in diesem Bereich des individuellen Lebens von Bedeutung sein kann. Andere, zum Teil noch nicht veröffentlichte Befunde weisen zweifelsfrei in dieselbe Richtung. Es ist trotzdem *durchaus vorstellbar*, daß graduelle Unterschiede in der Leistungsfähigkeit der Nase bestehen, die im einen Fall leichter, im anderen weniger leicht ins Auge fallen. Schließlich sind bei Schlangen auf Grund der Eigenarten des Atmungsapparates Atembewegungen viel geringer und vor allem viel unregelmäßiger¹. Das allein genügt, um die Nase als Sinnesorgan

¹ Man muß sich hüten, zu sehr zu verallgemeinern, vor allem solange man keine Möglichkeit hat, wirkliche Expirationsbewegungen von bloßen „Ventilationen“ des Luftsackes zu unterscheiden.

über kürzere oder längere Zeit von der Umwelt abzuschließen, ihre Leistungsbereitschaft herabzusetzen, genau so, wie das geringer entwickelte Züngeln mancher Echsen das JACOBSONSche Organ in seiner Leistungsbereitschaft beeinträchtigt. Wenn die Angaben von NOBLE und CLAUSEN hinsichtlich der Bedeutung der Nase bei anderen Lebensäußerungen zu Recht bestehen (Paarung, Brutpflege, Vergesellschaftung), dann müßte man auf Grund aller Tatsachen annehmen, daß bei Schlangen sich bis zu einem gewissen Grade für den Nahrungserwerb das JACOBSONSche Organ als Geruchsorgan zur Wahrnehmung beutespezifischer Gerüche herausgebildet habe. Vorläufig ist unsere Kenntnis aber noch nicht umfassend genug, um eine solche Frage zu beantworten.

Bei Echsen ist das experimentelle Leistungsvermögen der Nase von NOBLE und KUMPF (1936) und KAHMANN (1939f) erwiesen worden. Es ist auch hier graduellen Schwankungen unterworfen. Unter den bisher bekannten Formen ist der Nasensinn bei *Varanus griseus* DAUD. am wenigsten tüchtig, d. h. biologisch von geringster Bedeutung (noch nicht veröffentlicht). Alle anderen Formen können in einem hohen Prozentsatz ihre Beute mit der Nase auffinden. Für das biologische Verhalten scheint zu gelten, daß bei hervorragend entwickeltem Züngelmechanismus der Nase eine weniger große Bedeutung zukommen dürfte. Nähere Versuche sind jedoch noch nötig, um unsere Kenntnis hiervon auszuweiten.

Auch aus der Stellung der Nasenlöcher darf man vielleicht einen Schluß ziehen auf die Bedeutung der Nase. Bei vielen Schlangen sind die Nasenlöcher an der Schnauze nicht endständig und obendrein oft nicht einmal nach vorn gewendet. Bei vielen Vipern liegen sie stark zurück und öffnen sich nach oben und hinten. Manchmal sind sie beim Anblick von vorn überhaupt nicht sichtbar. Unter den Echsen liegen auffälligerweise bei *Varanus griseus* DAUD. und anderen Verwandten die Nasenlöcher dicht vor den Augen und öffnen sich schräg nach hinten und unten. In solchen Fällen scheint die Lage der Nasenlöcher wenig geeignet, dem Hauptgeruchsorgan einen schnellen Kontakt mit dem Beuteduft zu sichern, vor allem dann nicht, wenn es sich um die schwachen Duftmarken einer Beutespur handelt.

c) Die Bedeutung der Zunge im Züngelmechanismus bei Schlangen und Echsen.

Die Untersuchungen über die Bedeutung des JACOBSONSchen Organs als Sinnesorgan haben zweifelsfrei gezeigt, daß es sich um ein ausgesprochenes Witterungsorgan handelt. Der dabei immer eindringlicher gewordene Hinweis auf den Anteil der Zunge mußte nun eine gesonderte Würdigung erfahren. Die der Zunge von BROMAN zugeschriebene Funktion wurde schon dargelegt. Da indirekt durch die unter b) mitgeteilten Erkenntnisse eine Beteiligung der Zunge beim Wittern des JACOBSONSchen Organs erwiesen wurde, war damit der Weg für weitere experimentelle Untersuchungen aufgezeigt. Es mußte versucht werden, einen direkten Nachweis für die Bedeutung der Zunge zu erbringen.

Wenn die Zunge als Zuträger für das JACOBSONSche Organ von Bedeutung ist, dann erhebt sich zunächst die Frage: Wie belädt sich die Zunge mit den Riechstoffen, die an das JACOBSONSche Organ abgegeben werden? Hierzu gehört engstens die von verschiedenen Autoren verschieden beantwortete Frage, ob beim Züngeln die Unterlage von der Zunge berührt wird oder nicht. BAUMANN glaubt, daß ein Berühren des

Bodens mit der Zunge zwar in einigen Fällen beobachtet werden kann, aber nicht die Regel sei. Natürlich ist ein Berühren mit der Zunge an der Beute oder auf der Beutespur nicht leicht zu beobachten. Das Züngeln geschieht zumal auf der Spur so ruckartig und schnell, daß man unmöglich etwas Sicheres aussagen kann. Um eine Entscheidung treffen zu können, wurden Ringelnattern und andere Schlangen (*Vipera* usw.), aber auch Echsen (*Varanus*, *Ameiva*) auf fein berußtes Papier gesetzt und darauf laufen gelassen. Hierbei zeigte sich deutlich, daß beim Züngeln die Zungenspitzen stets den Boden, also die Kohleschicht, berührten und Spuren darin hinterließen (KAHMANN 1932a). Daß das auch der Beute gegenüber notwendig ist, zeigt WILDE (1938), der an *Thamnophis* fand, daß ohne Zungenkontakt die Nahrung überhaupt nicht angenommen wird.

Eine Anzahl von Beobachtungen lassen aber die Vermutung zu, daß die Zunge auch ohne den Duftträger zu berühren, sich mit in der Luft befindlichen Geruchsstoffen beladen kann, die im Zungenschleim festgehalten und dem JACOBSONSchen Organ übermittelt werden (BAUMANN 1929, KAHMANN 1932a). Diese Frage ist bislang nicht berührt worden, aber von höchstem Interesse.

Die Riechstoffe, welche durch Kontakt auf die Zungenoberfläche gelangen, werden im Zungenschleim haften bleiben. Der Schlangenzunge sowie der Zunge der Varaniden und Tejiden fehlen zwar eigene Drüsen (wenigstens im vorderen Zungenteil). Doch dürfte durch die engen Beziehungen der Zunge zum Gaumen die ausreichende Feuchterhaltung ihrer Spitzen gesichert sein, da in unmittelbarer Nähe des JACOBSONSchen Organs die Tränendrüse ausmündet. Ihr Sekret dürfte die Zungenspitzen ständig „umspülen“. Für Schlangen nimmt man ja sogar an, daß das reichlich fließende Sekret dieser Drüse zusätzlich beim Einspeicheln der Beute von Bedeutung sei. Auch die durch den Besitz von Drüsen ausgezeichnete Zungenscheide könnte für die notwendige Feuchterhaltung der Zunge herangezogen werden unter der Voraussetzung, daß beim Züngeln auch die Zungenspitzen in die Zungenscheide hineingezogen werden. Aber experimentelle Untersuchungen über diese subtile Frage stehen noch aus, und Spekulationen sind müßig.

Das direkte In-Zusammenhang-Treten der Zunge mit den der Unterlage anhaftenden Düften machte Beobachtungen möglich, die von KAHMANN (1932a) angestellt wurden. Sie gaben zugleich weitere Einblicke in die besondere Aufgabe der Zunge. Während des Züngelns wurde den Versuchstieren Ruß in möglichst feiner Verteilung auf die Zunge gebracht und geprüft, ob diese Partikel in die JACOBSONSchen Organe hineingelangt waren. Bei *Schlangen* geschahen diese Versuche in der Weise, daß die Zunge mit berußtem Kymographionpapier in Berührung kam, auf dem sich der Ruß sehr fein niederschlägt. Die Untersuchung von Mikrotomschnitten durch das Gaumenorgan zeigte, daß Rußpartikel in die Lumina der Organe aufgenommen worden waren. Die Befunde waren nicht immer *sehr* deutlich, aber *eindeutig*. Meist

waren die Fremdkörper in feinsten Verteilung in den JACOBSONSchen Organen enthalten. Bei *Echsen* (*Lacerta*), denen manchmal beim Züngeln einfach mit einem Pinselchen Ruß auf die Zunge gestäubt wurde, gelangten auch größere Partikel des Teststoffes in das Innere der JACOBSONSchen Organe hinein, wahrscheinlich in Zusammenhang mit der größeren Weite der Ausführungsgänge (Abb. 17). Es war so erwiesen, daß auf der Zunge befindliche Partikel in die JACOBSONSchen Organe gelangen, aber nicht zu ersehen, wie sie hineingelangen. Diese Frage und besonders die Frage nach der Bedeutung der Zungenspitze, deren Paarigkeit funktionell gedeutet worden war, bleibt noch, wie sich zeigen wird, in allen Einzelheiten zu untersuchen. In Einstäubungsversuchen an zungenspitzenlosen Tieren (Ringelnattern, *Lacerta*-Arten) war nur in ganz wenigen Fällen ein Effekt zu beobachten, und diese Fälle beziehen sich immer auf Eidechsen. In Spurenversuchen waren Ringelnattern nach Entfernen der Zungenspitzen wirksam gehindert, mit dem Beuteduft in Kontakt zu kommen, obwohl der Zungenstumpf lang genug war, um beim Züngeln die Spur zu erreichen (Prüfung auf Kohlepapier).

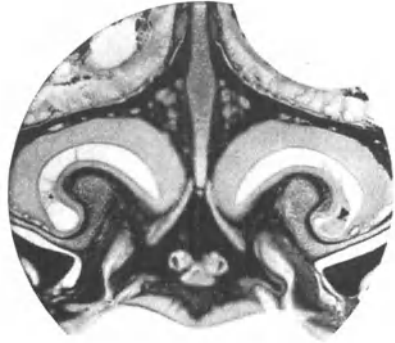


Abb. 17. *Lacerta agilis* L. Querschnitt durch die JACOBSONSchen Organe einer Eidechse, der beim Züngeln Kienruß auf die Zunge gestäubt wurde. Im linken Organ Schleimfetzen mit großem Rußpartikel. Spuren auch im rechten. Auch in den Nasenhöhlen befindet sich Ruß. Aus KAHMANN, 1932 a.

Andererseits erwies WILDE zweifelsfrei an *Thamnophis* eine Beziehung zwischen Zunge und JACOBSONSchen Organen auch dann, wenn Teile der Zungenspitzen, die ganzen Zungenspitzen oder Teile der Zunge entfernt waren (Tabelle 6). Voraussetzung war nur, daß die Möglichkeit der Berührung des Zungenstumpfes mit dem Duftträger (mit Regenwurmextrakt voll getränkte Wattebüsche!) erhalten blieb. Danach ist also unter diesen experimentellen Voraussetzungen ein Zungenkontakt mit dem *Palatinum* schon ausreichend, um auch von hier aus die JACOBSONSchen Organe zu erregen. Daß so grobe Teilchen, wie es Rußpartikel sind, unter den gegebenen Bedingungen nicht mehr in die JACOBSONSchen Organe gelangen, nimmt nicht wunder. Der Zubringermechanismus könnte jetzt so vergrößert sein, daß selbst nur ein äußerlicher Kontakt der Rußpartikel mit den JACOBSONSchen Organen erschwert ist. Daß feine (reichlich gebotene!) „Partikel“, wie es Duftstoffe sind, auch unter diesen Bedingungen noch an das Mündungsgebiet der Gaumenorgane gelangen und wirksam werden, zeigen die Feststellungen von WILDE. Es darf daher aus den genannten Versuchen an der Ringelnatter nicht ohne weiteres, wie es geschehen war (KAHMANN

Tabelle 6. *Thamnophis sirtalis sirtalis* L. (Nach WILDE 1938.)

Showing effect of removing portions of the tongue. Figures indicate number of responses from contact of tongue T and lips L with mucus swab, lip contact being tested only after tongue contact had failed. S, sum of T and L. Four trials. Legend: 'Thick tips', tongue tips clipped leaving stumps about 5 mm. in length, too thick at the end (0.2 mm.) to enter the entrances to JACOBSON'S organs; 'Short tips', remaining tips retrimmed leaving stump only 2.5 mm. in length, so short when spread apart their ends barely reach the entrances to JACOBSON'S organs.

Animal Number	Thick Tips			Short Tips			No Tips			No Tongue		
	T	L	S	T	L	S	T	L	S	T	L	S
41	4	0	4	3	1	4	1	3	4	0	4	4
42	3	1	4	4	0	4	2	2	4	0	4	4
43	4	0	4	4	0	4	4	0	4	0	2	2
44	3	1	4	1	3	4	1	3	4	0	4	4
45	4	0	4	4	0	4	3	1	4	0	4	4
48	0	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
49	3	1	4	2	2	4	0	4	4	0	4	4
50	0	4	4	1	3	4	1	3	4	0	4	4

1932a), auf eine Hauptfunktion der Zungenspitzen geschlossen werden. Der negative Ausgang der Spurenversuche kann jetzt möglicherweise daraus verständlich werden, daß die Duftmarken der Spur zu gering waren, um von dem Zungenstumpf noch wirksam übertragen zu werden. Außer Frage steht, daß unter biologischen Verhältnissen die Zungenspitzen die den wirksamen Kontakt vermittelnden Zungenteile sind (vgl. auch NOBLE 1937, 703). Es können die Ergebnisse aber im einzelnen nicht von den Vorstellungen BROMANs her gedeutet werden. Es besteht noch keine Möglichkeit, eindeutig zu entscheiden, welcher Art die engere Beziehung der Zunge zu den JACOBSONSchen Organen ist. Die Annahme einer Auslösung des Pumpmechanismus durch Zungendruck gegen den Kolbenknorpel (Concha) war schon von BROMAN selbst mit Einschränkungen gemacht. Ganz zweifellos spricht die Zungenmorphologie gerade der guten Zünger, besonders aber der Schlangen, gegen ein solches Vermögen. Die langen und dünnen, fast zarten Zungenspitzen dürften einer derartigen Verwendung nicht gerecht werden. Andererseits läßt sich für Echsen das Vorhandensein eines solchen Mechanismus *noch nicht vollständig verneinen*. Die weitere Annahme eines *Einführens* der Zungenspitzen in die Gaumenorgane ist zunächst ebenfalls noch nicht *erwiesen*, wenn auch unter natürlichen Bedingungen wenigstens bei Schlangen noch immer *am wahrscheinlichsten*. Es ist deshalb zu hoffen, daß die weiteren Experimente endgültigen Einblick in den Mechanismus der Übertragung von Riechstoffen an die JACOBSONSchen Organe geben¹.

¹ Hier dürfte die Beobachtung mit Hilfe der Röntgenuntersuchung weiterhelfen.

In einem decken sich die experimentellen mit den biologischen Erkenntnissen: Die Zunge ist der Zuträger von Reizstoffen an das JACOBSONSche Organ; ihre gänzliche Herausnahme isoliert das JACOBSONSche Organ vollständig von seiner Umwelt. Es ist äußerst wahrscheinlich, daß die Paarigkeit ihrer Spitze eine funktionelle Bedeutung hat (s. auch weiter unten). Die Erwägungen BROMANS in diesem Punkt sind also *nicht mehr Hypothese*.

d) Das JACOBSONSche Organ als Mundgeruchsorgan.

Die Beute kommt stets mit dem Munddach in innige Berührung und übt immer einen Druck dagegen aus. Es besteht also die erste und immer gegebene Möglichkeit, den Pumpmechanismus zu betätigen, beim Packen und Schlingen „jedes einigermaßen großen Raubes“. Zu dieser Frage sind durch KAHMANN (1932a und noch nicht veröffentlicht) einige Beobachtungen gesammelt worden. Beim Zupacken werden wohl mehr noch als beim Hinunterschlingen dem JACOBSONSchen Organ chemische Eindrücke, die von den Duftstoffen der Nahrung ausgehen, durch die Saugwirkung übermittelt. Dafür spricht auch die Lage des JACOBSONSchen Organs am Gaumen, das weit vorn, gleichsam an der „Pforte“ des Maules, sich öffnet. Um das Eintreten von Partikeln in das Gaumenorgan sichtbar zu machen, wurde die von den Versuchstieren anzupackende Beute mit feinstem Ruß eingestäubt. An Mikrotomschnitten wurde wiederum das Ergebnis beobachtet. Sowohl bei Echsen (*Lacerta* u. a.) als auch bei Schlangen (*Tropidonotus* u. a.) ließen sich ganz durchgängig feine Rußpartikel in einem oder in beiden JACOBSONSchen Organen nachweisen. Auch im Ausführungsgang zeigten sich Fremdkörper, wahrscheinlich größere Teilchen, die nicht ohne weiteres in das Organ gelangen konnten. Das Ergebnis solcher Versuche bot sich im Schnittbild in der gleichen Weise wie in den im vorhergehenden Abschnitt geschilderten Versuchen. Deshalb sei hier nochmals auf Abb. 17 verwiesen. Es liegt sehr nahe, den immer deutlichen Ausgang der Versuche im Sinne der BROMANSchen These auszudeuten. Denn das, was hier am lebenden Tier vorausgesetzt wird, konnte BROMAN auch noch mit genügender Deutlichkeit an gefrorenen und wieder aufgetauten Tierleichen darstellen (s. Absatz 2a).

Das Organ vermag aber schon als Mundgeruchsorgan in Erscheinung zu treten, wenn die Beute noch gar nicht ins Maul hineingelangt ist. WILDE fand an *Thamnophis* (unter Bedingungen, wie sie oben genannt wurden), daß nur die Berührung der *Lippen* mit dem Duftspender genügte, um die Versuchstiere zum Zupacken zu veranlassen, *auch dann*, wenn die Zunge restlos herausgeschnitten worden war (s. Tabelle 6). Dieser Reflex erlischt bereits, wenn nur der das JACOBSONSche Organ versorgende Nerv (Nervus vomeronasalis) zerstört ist (Tabelle 7). Er beruht also weder auf einer Orientierung mit der Nase noch auf irgendwelchen anderen Sinneseindrücken, sondern ausschließlich auf der Leistung des JACOBSONSchen Organs.

Tabelle 7. *Thamnophis sirtalis sirtalis* L. (Nach WILDE 1938.)

Showing effect of cutting the vomeronasal nerves. Figures indicate number of responses from contact of tongue T and lips L with the mucus swab, lip contact being tested only after tongue contact had failed. S, sum of T and L. Ten trials in columns I, III and IV, three in II.

Animal Number	I			II			III			IV		
	Normal			One Nerve			Both nerves cut					
							Days 1—5			Days 6—25		
	T	L	S	T	L	S	T	L	S	T	L	S
21	4	5	9	1	2	3	0	0	0	0	0	0
22	5	5	10	1	2	3	0	0	0	0	0	0
23	3	6	9	2	1	3	0	1	1	0	0	0
25	9	1	10	1	2	3	7	3	10	3	1	4
28	6	4	10	3	0	3	0	3	3	0	0	0
30	5	5	10	0	1	1	0	1	1	0	0	0
31	6	3	9	3	0	3	0	0	0	0	0	0
32	6	4	10	1	2	3	0	0	0	0	0	0
52	2	8	10	1	2	3	0	0	0	0	0	0
53	0	8	8	0	2	2	0	0	0	0	0	0
55	10	0	10	3	0	3	0	0	0	0	0	0
56	8	2	10	2	1	3	0	0	0	0	0	0
Per cent of response	95,8			91,7			12,5			3,3		

Von anderen Schlangen ist dergleichen noch nicht bekannt. Bei *Thamnophis sirtalis sirtalis* L. mag die experimentelle Anordnung zugleich eine biologische sein, denn in ihrer natürlichen Umwelt ernährt sich diese Schlange vielfach von Regenwürmern. Wenn schon ein Stückchen Regenwurmhaut (die doch kaum den Feuchtegrad besitzen dürfte wie ein Stück Extraktwatte) ausreichen würde, um nach Berührung mit den Lippen den Schnappreflex auszulösen, dann darf man Ähnliches vielleicht auch von anderen Schlangen erwarten, deren Beute (Frösche, Fische) gleiche Voraussetzungen bietet.

Dieser Effekt läßt sich nun überhaupt nicht im Zusammenhang mit der Theorie von BROMAN verstehen, da er beobachtet wird, wenn das Maul leer ist und auch dann, wenn die Zunge fehlt. Man könnte an eine Beteiligung des Unterkiefers denken, doch WILDE gibt an, daß "a study of the movement of its musculature failed to indicate that it was involved". Weitere Untersuchungen sind nötig, ehe diese Erscheinung endgültig gedeutet werden kann.

Es ist einhellig, daß das Gaumenorgan eine Rolle als Mundgeruchsorgan spielt. Welchen Funktionsbereich das in seiner Leistung auf die Mundhöhle beschränkte Organ hat, ist nicht genügend bekannt. Es müssen zur Beantwortung dieser Frage auch die graduellen Unterschiede in der Ausbildung des Organs berücksichtigt werden, um ein angenähertes Bild der Leistung zu bekommen. Diesbezügliche Studien können hier noch keine Berücksichtigung erfahren.

Eine gesonderte Frage ist die nach der *Entleerung* des Organs. Seiner Herkunft entsprechend ist das JACOBSONSche Organ mit primären Sinneszellen ausgekleidet. Die Reizschwelle ist also wahrscheinlich verhältnismäßig niedrig. Eine Anhäufung von Riechstoffen im Organlumen würde mit einer Überreizung und damit Abstumpfung des Sinnesepithels einhergehen. Es muß also notwendigerweise das Organ auf die eine oder andere Weise entleert werden. Die Blindendigung und die außerordentliche Feinheit der Mündungsstelle lassen aber eine Entleerung als sehr erschwert erscheinen. Man kann darauf verweisen, daß bei Eidechsen und mehr noch bei Schlangen die Mundregion sehr beweglich sein kann oder ist. Verschiebungen der Kiefer, wie sie bei Schlangen besonders im Anschluß an den Schlingakt beobachtet werden, wirken sich ohne weiteres auf das Gaumenorgan aus. Es spricht auch das beim Vorziehen der *Pterygoidea* und *Palatina* am soeben getöteten Tier zu beobachtende Austreten eines Sekrettropfens aus den Ausführungsgängen für eine unter normalen Bedingungen ebenfalls mögliche „Durchknutung“ des Lumens der Organe. Die Vomerer der Eidechsen können Wackelbewegungen ausführen, die gleichfalls zur Veränderung des Organlumens beitragen mögen. Eigene Drüsen fehlen dem Organ zwar, aber in unmittelbarer Nähe des Ausführungsganges mündet bei Schlangen z. B. die Tränendrüse aus, und nach BROMAN stammt das Sekret in den Gaumenorganen aus dieser Drüse. Auch sie würde, wenn sie das Organ ständig durchspült, an seiner Entleerung teilhaben können. Jedenfalls dürfen zukünftige Untersuchungen am JACOBSONSchen Organ diese wichtige Frage nicht außer acht lassen.

e) Weiteres von der Leistung des JACOBSONSchen Organs
und von seiner biologischen Bedeutung.

Der Funktionsbereich des JACOBSONSchen Organs beschränkt sich nicht auf eine mehr oder weniger starke Beteiligung beim Nahrungserwerb. Dieser Anteil seiner Leistung ist bisher nur am besten bekannt geworden, wenn auch noch keineswegs in erschöpfender Weise. Auch hier bleibt es strebenswert, unter Beobachtung biologischer Unterschiede zwischen den einzelnen Formen unsere Kenntnis vergleichend zu erweitern. Die Leistungen des JACOBSONSchen Organs in anderen Bereichen des individuellen Lebens sind noch recht wenig vergleichend bekannt. In dieser Hinsicht hat bisher nur NOBLE mit seinen Mitarbeitern Beobachtungen beigebracht.

Bei der *Paarung* konnte NOBLE (1937) an *Thamnophis* eine Beteiligung des JACOBSONSchen Organs erweisen. Wie weit sie geht, läßt sich nicht ganz erschließen, zumal beobachtet wurde, daß sogar nahe verwandte Formen solchen Versuchen verschieden gut zugänglich sind. Schon BAUMANN (1929) weist darauf hin und NOBLE und andere bestätigen es, daß bei der Werbung und Paarung die Erregung der Tiere eine raschere Atmung bedingt und dadurch die Nase stärker in den Kreis der beteiligten Sinnesorgane treten kann. Auf jeden Fall darf man aber das JACOBSONSche Organ als akzessorisch beteiligt betrachten, denn die Umwerbung des Weibchens *kann* aufhören, wenn die JACOBSONSchen Organe ausgeschaltet sind. Die Ergebnisse sind aber gerade an *Thamnophis* noch nicht eindeutig. Im Zusammenhang mit dem unter

2b von der Bedeutung der Nase Gesagten ist diese Frage wohl interessant genug, um noch durchgängiger behandelt zu werden.

Dem *Kumpfan* gegenüber hat das JACOBSONSche Organ bei gesellig lebenden Schlangen (*Storeria dekayi* HOLBROOK) keine oder doch keine nennenswerte Bedeutung als Sinnesorgan (NOBLE und CLAUSEN 1936). Hier sind vor allem Nase (!) und Auge die leitenden Sinne (Tabelle 8). Es ist überraschend, daß der Nase in diesem Bereich eine so große Bedeutung zukommt. Auch hier können nur vergleichende Studien weiterführen.

Tabelle 8. *Storeria dekayi* HOLBROOK. The influence of sense organs on aggregation. (Nach NOBLE und CLAUSEN 1936.)

Series ¹	Room ²	Number of Snakes		Trials	Reaction
		Experimental ³	Control ⁴		
B(lindfolded) . . .	L	15	0	3	Positiv
B	L	15	10	3	„
B	D	15	0	4	„
B	D	15	10	3	„
N(nose stopped) .	L	14	0	3	„
N	L	14	10	3	„
N	D	14	0	8	Negativ
N	D	14	10	3	„
T(tongueless) . . .	L	12	0	4	Positiv
T	L	12	10	5	„
T	D	12	0	4	„
T	D	12	10	4	„
BN	L	14	0	5	Negativ
BN	L	14	10	5	„
BN	D	14	0	4	„
BN	D	14	10	4	„
BT	L	12	0	4	Positiv
BT	L	12	10	3	„
BT	D	12	0	2	„
BT	D	12	10	3	„
NT	L	11	0	3	„
NT	L	11	10	5	„
NT	D	11	0	5	Negativ (4)
NT	D	11	10	5	„
BNT	L	11	0	4	„
BNT	L	11	10	4	„
BNT	D	11	0	3	„
BNT	D	11	10	4	„

¹ Designates type of experimental animal used, i. e., B, blindfolded; N, nosestopped; T, tongueless; BN, blindfolded and nosestopped; BT, blindfolded and tongueless; NT, nosestopped and tongueless; BNT, blindfolded, noseless and tongueless.

² L — Daylight (in front of window); D — Darkroom.

³ Animals from which sensory structures were removed.

⁴ Untreated animals.

Über die Bedeutung des JACOBSONSchen Organs bei der *Brutpflege* ist bisher lediglich von *Eumeces laticeps* SCHNEIDER unter den Echsen etwas bekannt geworden (NOBLE und MASON 1933; NOBLE und KUMPF 1936). Diese Art wurde beim Aufsuchen des Nestes beobachtet und es zeigte sich, daß auch nach Ausschaltung von Auge und Nase das Gelege wieder aufgefunden wurde. Wenn die Eier auseinandergelegt wurden, so wurden sie auch unter diesen Bedingungen vom Weibchen zusammengetragen und das Brutgeschäft fortgesetzt. Tat man Eier der Echse *Sceloporus undulatus* DAUD. unter das Gelege, so wurden sie als Fremtteile erkannt und nicht mitbebrütet.

Mit diesen Angaben ist gezeigt, wie wenig bisher über den weiteren Leistungsbereich des JACOBSONSchen Organs erarbeitet worden ist. Eine umfassendere Kennzeichnung seiner biologischen Gesamtbedeutung kann noch nicht erfolgen. Es ist auch nicht leicht, einem Sinnesorgan seine tatsächliche Bedeutung abzusehen ohne Rücksicht auf das korrelative Verhältnis zu den anderen Sinnesorganen. Experimentelle Untersuchungen geben in vielen Fällen das, was geleistet werden *kann*, nicht aber, was nun unter biologischen Voraussetzungen wirklich geleistet *wird*. Genau umgrenzen kann man den Leistungsbereich eines Sinnesorgans erst, wenn man zu einem Verständnis des Gesamtkomplexes gekommen ist, der ein Tier sinnesphysiologisch in seiner Umwelt verankert. Auf Grund der experimentellen und biologischen Erkenntnisse soll versucht werden, wenigstens den jeweils *möglichen* Anteil des JACOBSONSchen Organs an der Gesamtorientierung im Lebensraum ganz kurz zu streifen.

Der größte Teil der bis jetzt auch experimentell durchforschten Schuppenkriechtiere verzehrt lebende Beute. Das Auge vermittelt in den meisten Fällen die erste Beziehung, wohl zunächst immer auf Grund der Bewegung der Beute. Natterartige Schlangen und Echsen laufen, durch die Bewegung erregt, auf den Reizträger zu und packen ihn. Dem Schlingakt geht aber die chemische Prüfung der Beute im Maule voraus. Er wird durch sie überhaupt erst ausgelöst. Ringelnattern, die durch ein an einem Faden bewegtes Gummischwämmchen optisch erregt werden, packen die vermeintliche Beute, um sie sofort wieder loszulassen, versuchen das Schwämmchen aber zu verschlingen, wenn es vorher mit Froschsekret verwittert wurde (WIEDEMANN 1931). Viperartige Schlangen unterbrechen den Handlungsablauf nach dem Biß. Sie schlingen (wenigstens meistens) nicht sofort, vielmehr entkommt die Beute wieder und verendet dann irgendwo. BAUMANN (1929) konnte zeigen, daß, „wenn nach Biß eine Suchhandlung auftreten soll, im Bißreiz, der dabei zur Wirkung kommt, eine beutespezifische chemische Komponente enthalten sein muß“. Beim *Anpacken* bzw. beim *Biß* dürfte also (neben dem Geschmackssinn?) das JACOBSONSche Organ als Geruchsorgan mit größter Wahrscheinlichkeit in seiner Bedeutung als Mundgeruchsorgan in Erscheinung treten. Seine Alarmierung ist also ein Faktor, der die weiteren Reaktionen mitbestimmt.

Bei einer Anzahl Schlangen (besonders Viperiden) und bei *Varanus griseus* DAUD. kann das JACOBSONSche Organ nach erfolgter Alarmierung (wie sie mit dem Anpacken oder dem Biß verbunden ist) für sich allein *Leitsinn* sein¹. Sein Ansprechungsvermögen ist so fein, daß allein mit seiner Hilfe auch Duftspuren über weite Strecken schließlich bis zur Beute verfolgt werden können. Dabei ist das Züngeln selbst als Maßstab für die erhöhte Reaktionsbereitschaft zu betrachten: Die dem JACOBSONSchen Organ von der Zunge zugeführten Erregungen bewirken reflektorisch eine Steigerung der Züngelfrequenz. WILDE fand in seinen Versuchen an *Thamnophis*, daß bei Zungenkontakt in 63 %, bei Lippenkontakt in 95 % das Gaumenorgan sogar *primär* Leitsinn sein kann. Das würde unter biologischen Bedingungen bei Vipern und manchen Nattern (*Coluber longissimus* LAUR., *Coronella austriaca* LAUR.) dann der Fall sein können, wenn die herumkriechenden Tiere zufällig in das Duftfeld eines versteckt liegenden oder toten Raubes gelangen. Gerade Vipern dürften nicht selten in solche Situationen kommen und, da sie den Geruch einer toten Maus deutlich von dem einer lebenden unterscheiden und bevorzugen, imstande sein, einen solchen Fund sich zu nutze zu machen. Im ganzen gesehen tritt das JACOBSONSche Organ bei Schlangen stärker als Leitsinn in Erscheinung, als bei Echsen, unter denen, wie erwähnt, eigentlich nur die Warane den Schlangen in dieser Hinsicht näher stehen.

Über das korrelative Verhältnis des JACOBSONSchen Organs zu den anderen Sinnesorganen ist wenig bekannt. Über das Verhältnis zum *Hauptgeruchsorgan* läßt sich gar nichts aussagen, denn die experimentellen Ergebnisse über die Leistung der Nase können noch nicht biologisch verwertet werden. Leichter zugänglich ist das korrelative Verhältnis zwischen *Auge* und JACOBSONSchem Organ. Die sich hieraus ergebenden Zusammenhänge sind früher schon einmal angedeutet worden (KAHMANN 1934c). Eine optische Abhängigkeit von der Umwelt besteht, wie gesagt, auch für züngelnde Reptilien. Es bestehen aber Unterschiede in dieser Richtung. Die optische Bindung (z. B. an die Nahrung) kann verschieden stark sein. Bei vielen Lacerten ist die Verknüpfung mit den Bewegungsreizen der Nahrung viel inniger, als z. B. beim Waran. Agamiden und Iguaniden, welche nie züngeln, zeigen das oft noch ausgesprochenere. Sie können aber auch zu unbewegter Beute durch den Gesichtssinn in Beziehung kommen, wobei ihnen die „Formerfahrung“ von Nutzen sein dürfte. *Nicht züngelnde* Echsen lernen in der Gefangenschaft, wenn überhaupt, viel schwerer, Kunstnahrung aufzunehmen, als züngelnde Formen. Das beweist nicht nur eine stärkere Bindung an biologische Bewegungs- und Formreize, sondern erweist auch die geringe Bedeutung ihrer Nase. Gerade diese Echsen sind es aber, die im allgemeinen in ihrer Netzhaut funktionelle Strukturen in Form hoch-

¹ Unter experimentellen Bedingungen ist das bei sehr viel mehr Schlangen der Fall.

differenzierter Foveae retinae besitzen (KAHMANN 1936e). Überraschenderweise bilden die Schlangen einen Konvergenzfall zu diesem Verhalten. An sich sind graduelle Verschiedenheiten im Züngeln bei Schlangen kaum ausgesprochen. Aber eben diejenigen Gattungen (*Dryophis* u. a.), die auf den ersten Blick aus dem Rahmen fallen, besitzen, unter den Schlangen eine große Ausnahme, eine Fovea retinae (WALLS 1932; KAHMANN 1933b). Es zeigt sich also, daß gerade die Squamaten, die *nicht* züngeln, Differenzierungen am Auge aufweisen, die wir als Maßstab für höhere Leistungsfähigkeit anzulegen gewohnt sind. Wie bei solchen Formen das JACOBSONSche Organ in verschiedenem Ausmaß minder entwickelt ist, wird noch zu zeigen sein. Das beweist dann besonders die engen Wechselbeziehungen zwischen der Leistung des Züngelmechanismus und der Leistung des Auges. Eine ins Einzelne gehende Bearbeitung dieser Frage dürfte noch manchen hübschen Zusammenhang aufdecken.

f) Versuch einer vergleichenden Betrachtung des Mechanismus Zunge JACOBSONSches Organ.

Zur Abrundung des Bildes ist es nicht ohne Reiz, abschließend noch einen vergleichenden Überblick zu versuchen. Wie sich gezeigt hat, besteht die Beziehung der Zunge zum JACOBSONSchen Organ darin, daß die Duftstoffe durch die Zungenspitzen an die Organe herangebracht werden. Tatsächlich sind bei allen gut züngelnden Reptilien die Zungenspitzen lang und dünn. An erster Stelle muß auf die Schlangen verwiesen werden. Die Schlangenzunge ist schlank, zart, im Querschnitt rundlich bis oval, stark durchblutet und daher trotz ihrer Zartheit verhältnismäßig turgeszent. Ihre Spitzen sind sehr fein ausgezogen. Am ähnlichsten ist ihr die Zunge der Varaniden und Tejiden, also gerade derjenigen Echsen, die hervorragend züngeln. Besonders die Varanzunge hält einem solchen Vergleich stand: „Ihre beiden Spitzen sind ganz schlangenartig und finden sich in ähnlicher Entwicklung bei anderen Echsen nicht“ (WERNER 1913). Die Zweispitzigkeit ist in beiden Gruppen für Echsen auffällig herausgebildet. Bei anderen züngelnden Echsen ist die Zunge breit, fleischiger und das funktionelle Merkmal der Paarigkeit der Spitze morphologisch geringer entwickelt. Wie sehr man die Paarigkeit der Zungenspitze als funktionelles Merkmal werten darf, zeigen am besten die gar nicht züngelnden Formen. Sie besitzen wulstige sehr muskulöse und drüsenreiche Zungen, deren Spitzen oft kaum angedeutet sind und die bisweilen überhaupt nicht hervorgestreckt werden können. Eine solche den Einfluß des Züngelns dartuende Reihe in der Zungenmorphologie ist in Abb. 18 dargestellt. Die tiefgegebelte Zunge der guten Züngler scheint alle der Zunge sonst eigenen Funktionen verloren zu haben. Sie hat keinen Anteil am Packen der Beute noch an dem Zerquetschen oder dem sonstigen Zerkleinern der Nahrung. Auch ihre Bedeutung als Träger von Geschmacksorganen und Tastwerkzeugen

ist verloren gegangen oder wenigstens sehr viel geringer als bei nicht züngelnden Echsen. Man kann einen solchen Zungentyp als „Spürzungentyp“ bezeichnen. Dem gegenüber ist die Zunge, wie sie Geckonen, Agamen, Leguanen u. a. zukommt, mit einer vielseitigen Verwendung beim Ergreifen der Nahrung ein ausgesprochener „Greifzungentyp“. Aus der Zungenmorphologie kann man also mit einiger Sicherheit Rückschlüsse auf den Ausbildungsgrad des Züngelns machen.

Die Beziehung zwischen Zunge und JACOBSONSchen Organen, wie sie im Züngeln zum Ausdruck kommt, ist eine funktionelle, gleichsam

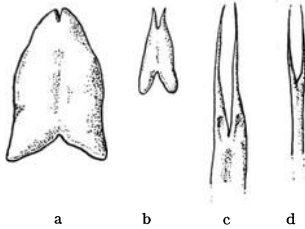


Abb. 18a—d. *Physignathus lesueuri* GRAY (a), *Lacerta fiumana* WERN. (b), *Varanus griseus* DAUD. (c), *Tropidonotus natrix* L. (d). Zungenformen bei Squamaten. Es sind die Extreme in der Gestaltung der Zunge bei nicht züngelnden (a) und bei in verschiedenem Ausmaß züngelnden Formen dargestellt (b—d). Besonders wichtig scheint die zunehmende Differenzierung des Vorderendes der Zunge zur Paarigkeit zu sein. a wäre ein Greifzungentyp, c und vor allem d wären ausgesprochene Spürzungentypen. Natürliche Größe. AUS KAHMANN, 1939 f.

„dynamische“ Beziehung. Es wurde aber schon wiederholt darauf verwiesen, daß auch in der Ruhe ein enger Zusammenhang zwischen Zunge und Gaumenorganen besteht. Gerade bei den gut züngelnden Formen ist diese „statische“ Gemeinschaft sehr eng gestaltet. Es ist besonders die vordere Partie des Munddaches bei den guten Zünglern stärker differenziert. Im Zusammenhang mit dieser Differenzierung beobachtet man auch besondere plastische Bildungen am Mundboden (vgl. Abb. 19: *Tropidonotus natrix* L., *Varanus griseus* DAUD.). Im Zusammenwirken bei geschlossenem Maul bilden beide Teile eine Art Gleitrinnen für die Zungenspitzen, die auf diese Weise beim Züngeln zwangsläufig an den Ausführungsgängen der

JACOBSONSchen Organe vorbeigeführt werden (vgl. Abb. 12). Wenig oder gar nicht züngelnde Echsen zeigen diese topographischen Besonderheiten viel weniger deutlich oder überhaupt nicht (Abb. 19: *Acanthodactylus scutellatus* AUD., *Physignathus lesueuri* GRAY). Differenzierungen des Mundbodens im Zusammenhang mit der Züngelmechanik fehlen vollständig. So geben diese plastischen Differenzierungen innerhalb der Mundhöhle eine weitere Möglichkeit, den Grad des Züngelns zu beurteilen.

Auch in der Ausbildung des JACOBSONSchen Organs selbst sind Unterschiede zu beobachten. Sie sind aber im allgemeinen weniger deutlich. Das ist verständlich, da, wie gesagt, den Gaumenorganen als Mundgeruchsorganen beim Prüfen der bereits im Munde befindlichen Nahrung eine Bedeutung zukommt. Wenn nicht gezüngelt wird, dann bedeutet das also keineswegs eine damit einhergehende Funktionslosigkeit des Organs. Wirklich rückgebildet sind die Gaumenorgane unter den Echsen (*Lacertilia*) nur hier und dort, man kann fast voraussagen, bei welchen Arten. Unter den Agamen ist es z. B. rudimentär bei *Cophotis ceylanica* PETERS (ECKARDT 1922). Es dürfte unter den Leguanen bei der Form *Chamaeleolis chamaeleontides* D. B. ebenfalls zurückgebildet sein.

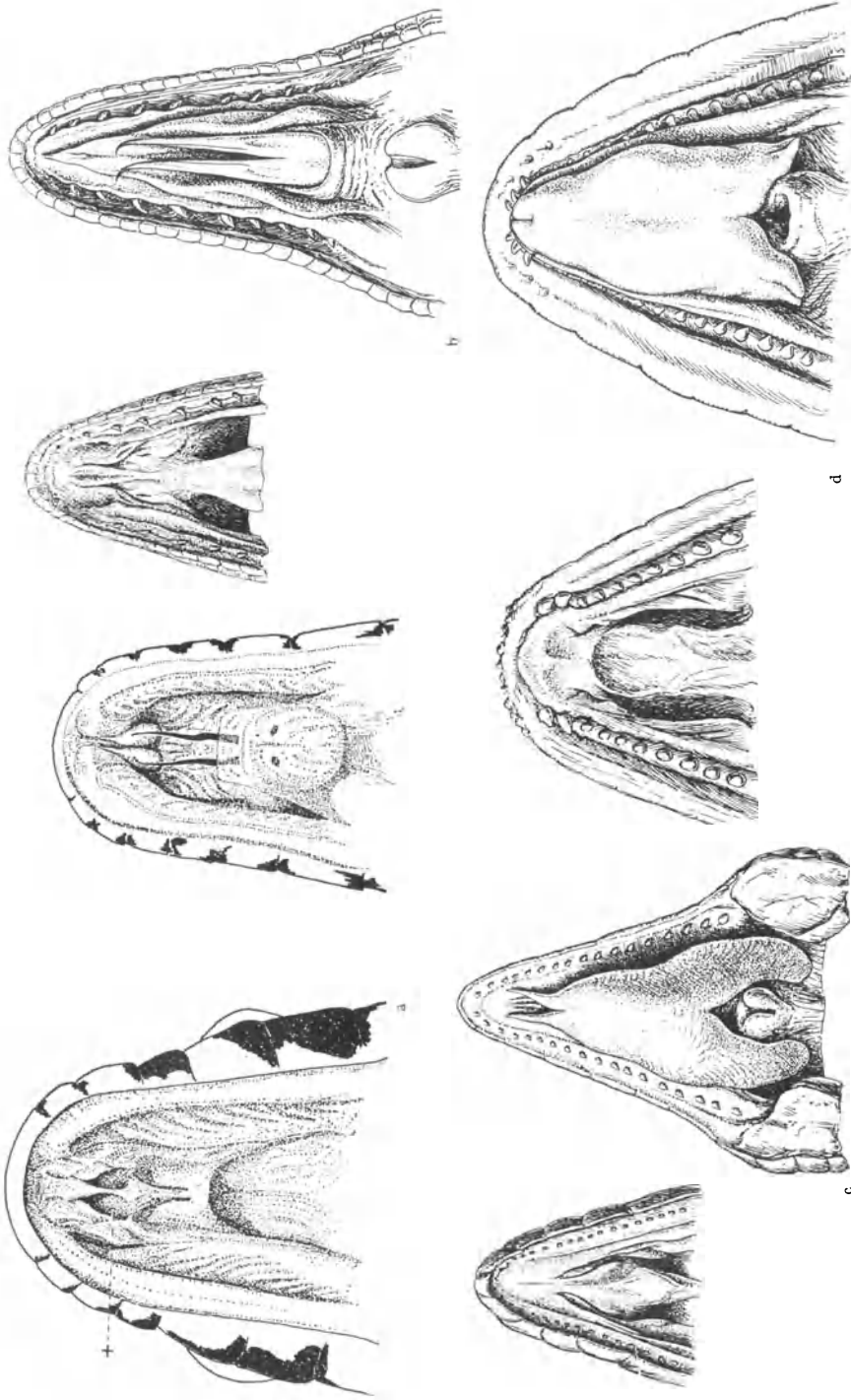


Abb. 19 a—d. *Tropidonotus natrix* L. (a), *Varanus griseus* DAUD. (b), *Acanthoachylys scutellatus* AUD. (c), *Physignathus tesqueri* GRAY (d). Die Abbildung zeigt die Unterschiede in der „statischen“ Topographie bei ansgezähntetzüngeln (a, b), wenig (c) und gar nicht (d) züngelnden Squamaten. Man beachte bei a (+) und b besonders die plastischen Bildungen an Gaumen und Mundboden, die bei geschlossenem Maul ineinanderpassen und ein seitliches Ausgleiten der Zunge verhindern. Die Mündungsstellen der JACOBSSENSchen Organe sind deutlich. (a 4fach, b 1,5fach, c 5fach, d 2fach.) a aus KAHMANN 1932 a; b—d aus KAHMANN 1939 f.

Schließlich ist das JACOBSONSche Organ auch bei allen Chamaeleonen (*Rhoptoglossa*) sehr schwach entwickelt. Im allgemeinen beziehen sich die graduellen Unterschiede in der Gestaltung des Organs besonders auf

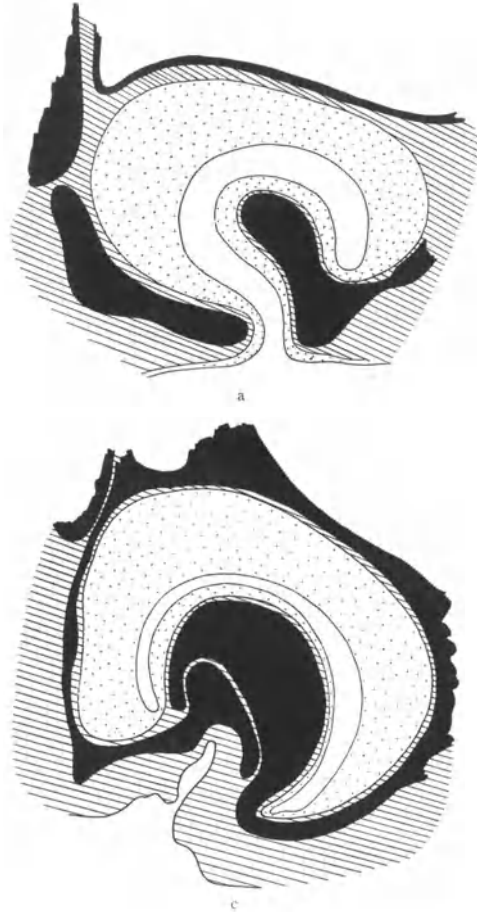
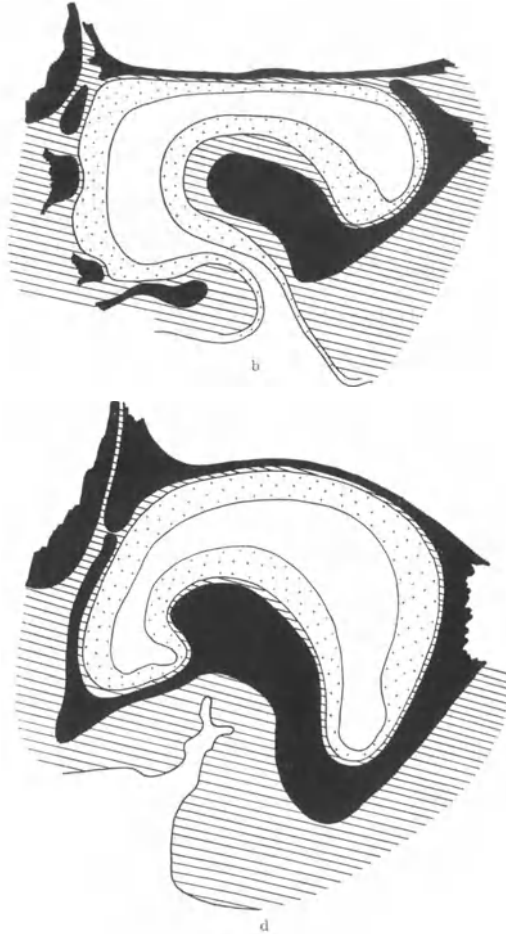


Abb. 20a—d. *Lacerta agilis* L. (a), *Iguana tuberculata* LAUR. (b), *Tropidonotus natrix* L. (c), *Dryophis* sche Organ im Gebiet des Ausführungsganges (a, b) oder unmittelbar davor (c, d). a Häufiger züngelnde Bilder bieten die garnicht züngelnden *Agama*-Arten, *Uromastix*, *Anolis*, *Phrynosoma*, *Zonurus* und viele bisher untersuchten Schlangen, d auffällig wenig züngelnde Schlange (ähnlich sind *Thelotornis* und das Epithel des pilzförmigen

die Ausbildung des Sinnesepithels. Weniger betreffen sie die knorpeligen oder knöchernen Differenzierungen. Züngelnde Echsen sind in der Ausgestaltung der Gaumenorgane den nicht züngelnden also deutlich überlegen. Dasselbe gilt von den Schlangen. Innerhalb der Colubriden zeigt das JACOBSONSche Organ bei weitem am stärksten Unterschiede

in seiner Größe und Ausbildung. Das wird eben daraus mit verständlich, daß diese Familie biologisch sehr verschiedene Schlangenvertreter enthält. Ein abweichendes Verhalten findet sich in einem für Schlangen



mycterizans L. (d). Schematische Querschnitte (bei gleicher absoluter Größe) durch das linke Jacobson-Echse (ähnliche Bilder bieten *Varamus*, *Améiva*, *Ophisaurus* u. a.), b kaum züngelnde Echse (ähnliche andere; alle Formen mit Fovea retinae); c hervorragend züngelnde Natter (ähnliche Bilder bei fast allen vermutlich *Dryophiops*; *Dryophis* und *Thelotornis* mit Fovea retinae. Das Sinnesepithel des Organs Wulstes sind punktiert. Original.

besonderen Maße in der Gattung *Dryophis* sowie in den Gattungen *Dryophiops* und *Thelotornis*. Wieder ist der Unterschied in der Ausbildung des Sinnesepithels am deutlichsten. Aber auch der Kolbenknorpel ist nur schwach entwickelt. Gerade die genannten Gattungen fallen biologisch durch die außergewöhnlich geringe Entwicklung des Züngel-

reflexes auf (vgl. das unter e) vom Auge Gesagte). Es hat so den Anschein, als ob das JACOBSONSche Organ als Spürorgan eine feinere nervöse Ausgestaltung erfahren hätte. Zur Verdeutlichung dieser Unterschiede, soweit sie histologisch ausgeprägt sind, sei auf Abb. 20 verwiesen.

Biologisch gesehen, ergeben die züngelnden Reptilien eine Reihe, in der die Schlangen an erster Stelle stehen. Sie ist allein durch das zu beobachtende Ausmaß des Züngelns bestimmt. Es würden dann folgen Varaniden, Tejiden, die Menge der weniger ausgeprägt züngelnden Echsen (auch die Skinke, die bisher noch nicht vergleichend untersucht sind) und schließlich das andere Extrem, die gar nicht züngelnden Formen (vgl. die erwähnten Familien und Gattungen). Diese funktionelle Reihe drückt sich zusätzlich dann auch in morphologischen Merkmalen aus: in Zungengestalt, Munddach- und Mundbodengestaltung und Ausbildungsgrad des Gaumenorgans, wie es eben gezeigt wurde. Diese Reihe würde zugleich den Weg darstellen zwischen der Leistung des JACOBSONSchen Organs als Witterungsorgan (Spürorgan) und seiner Leistung als Mundgeruchsorgan. Wie die Reihe wirklich verläuft, bleibt allerdings verborgen. Vielleicht darf man die Leistung als Mundgeruchsorgan als ursprüngliche Aufgabe ansehen. Doch wäre es Spekulation, nun auch von stammesgeschichtlichen Gesichtspunkten her eine Ordnung zu versuchen, so reizvoll es auch wäre, herauszufinden, über welche Etappen ein ursprünglich rein als Mundgeruchsorgan funktionierendes Sinnesorgan zu einem so leistungsfähigen Fernsinnesorgan spezialisiert wird.

Literatur.

- BAUMANN, F.: Experimente über den Geruchssinn und den Beuteerwerb der Viper (*Vipera aspis* L.). Z. vergl. Physiol. **10**, 36 (1929).
- BROMAN, I.: Om Jacobsonska Organets Konstruktion och Funktion. Lunds Univ. Årsskrift, N. F., Avd. II, **14**, 1 (1918a).
- Das Organon vomeronasale Jacobsoni — ein Wassergeruchsorgan. Anat. H. **58**, 137 (1920b). Literatur!
- ECKARDT, H.: Über das Geruchsorgan einiger ceylonischer Eidechsen (Agamiden). Jena. Z. Naturwiss. **58**, 271 (1922).
- GRATIOLET, L.: Recherches sur l'organe de JACOBSON. Thèse méd. Paris **1845**, No 164.
- HAMLIN, H.: Working mechanisms for the Liquid and Gaseous Intake and Output of the JACOBSON'S Organ. Amer. J. Physiol. **91**, 201 (1929).
- HERZFELD, P.: Über das JACOBSONSche Organ des Menschen und der Säugtiere. Zool. Jb., Anat. u. Ontog. **3**, 551 (1889).
- KAHMANN, H.: Experimentelle Untersuchungen über das JACOBSONSche Organ der Eidechsen und Schlangen. Zool. Jb., Physiol. **51**, 173 (1932a).
- Zur Kenntnis der Netzhaut der Reptilien. Zool. Anz. **102**, 177 (1933b).
- Zur Chemorezeption der Schlangen. Ein Nachtrag. Zool. Anz. **107**, 249 (1934c).
- Zur Biologie des Gesichtssinnes der Reptilien. Zool. Anz. **108**, 311 (1934d).
- Über die Fovea centralis und die Fovea lateralis bei einigen Wirbeltieren. Graefes Arch. **135**, 265 (1936e).
- Über das JACOBSONSche Organ der Echsen. Z. vergl. Physiol. **26**, 669 (1939f).

- KATHARINER, L.: Die Nase der im Wasser lebenden Schlangen als Luftweg und als Geruchsorgan. Zool. Jb., System. **13**, 415 (1900).
- KERKHOFF, H.: Beitrag zur Kenntnis des Baues und der Funktion des JACOBSONSchen Organs. Z. mikrosk.-anat. Forsch. **1**, 621 (1924).
- KLEIN, E.: A Further Contribution to the Minute Anatomy of the Organ of JACOBSON in the Guinea-pig. Quart. J. microsc. Sci. **21**, 219 (1881a).
— The organ of JACOBSON in the Rabbit. Quart. J. microsc. Sci. **21**, 549 (1881b).
- LAUTENSCHLAGER, F.: Über das JACOBSONSche Organ von Wassernagern und Landnagern. Zool. Anz. **107**, 285 (1934).
- MATTHES, E.: Die physiologische Doppelnatur des Geruchsorgans der Urodelen im Hinblick auf seine morphologische Zusammensetzung aus Haupthöhle und „JACOBSONSchem Organe“. Z. vergl. Physiol. **4**, 81 (1926a).
— Weitere Geruchsdrüsen an Meerschweinchen. Z. vergl. Physiol. **17**, 464 (1932b).
— Geruchsorgan. Handbuch der vergleichenden Anatomie der Wirbeltiere, Bd. II/2, S. 879. Berlin u. Wien: 1934c.
- MIHALKOVICS, V. v.: Nasenhöhle und JACOBSONSches Organ. Anat. H. **11**, 1 (1899).
- MILSTEIN, T.: Zur Morphologie des JACOBSONSchen Organs. Z. Hals- usw. Heilk. **23**, 18 (1929a).
— Sur la physiologie de l'organe de JACOBSON. Rev. de Laryng. etc. **50**, 705 (1929b).
- NOBLE, G.: Sense Organs Involved in the Courtship of *Storeria*, *Thamnophis* and other Serpents. Bull. Amer. Mus. natur. Hist. **73**, 673 (1937).
— and H. CLAUSEN: The Aggregation Behavior of *Storeria dekayi* and other Snakes with Especial Reference to the Sense Organs Involved. Ecology Monogr. **6**, 271 (1936).
— and K. KUMPF: The Function of JACOBSON'S Organ in Lizards. J. gen. Psychol. **48**, 371 (1936).
— and E. MASON: Experiments of the brooding Habits of the Lizards *Eumeces* and *Ophisaurus*. Amer. Mus. Novit. **1933**, Nr 619.
- PEARLMAN, S.: JACOBSON'S Organ. Ann. of Otol. **43**, 739 (1934). Literatur.
- PIANA, G.: Contribuzione alla conoscenza della struttura e della funzione dell'organo di JACOBSON. Mem. Accad. Sci. Bologna **1**, 421 (1880).
- RETZIUS, G.: Die Riechzellen der Ophidier in der Riechschleimhaut und im JACOBSONSchen Organ. Biol. Unters. **6**, 48 (1894).
- SEYDEL, O.: Über die Nasenhöhle und das JACOBSONSche Organ bei Amphibien. Eine vergleichend-anatomische Untersuchung. Gegenbaurs Jb. **23**, 453 (1895).
- WALLS, G.: Visual Purple in Snakes. Science (N.Y.) **75**, 467 (1932).
- WERNER, F.: Reptilien II. BREHMS Tierleben. Leipzig 1913.
- WIEDEMANN, E.: Zur Biologie der Nahrungsaufnahme europäischer Schlangen. Zool. Jb., System. **61**, 621 (1931).
- WILDE, W.: The Role of JACOBSON'S Organ in the Feeding Reactions of the Common Garter Snake, *Thamnophis sirtalis sirtalis* L. J. of exper. Zool. **77**, 445 (1938).

Über Explantation „in vitro“.

Von **KARL BAUER**, München.

Mit 42 Abbildungen.

Inhaltsübersicht.

	Seite
A. Einleitung	337
B. Wesen der Explantation „in vitro“.— Der neue, künstliche Lebensraum	338
C. Die Technik der Gewebezüchtung	344
D. Die Wachstumsformationen in der Gewebekultur und das physiologische Problem ihrer Entstehung	350
a) Allgemeines	350
b) Die kleinste, in vitro züchtbare Einheit	356
c) Die epithelialen Gewebe (vorwiegend solide Bildungen: Membranen, Tubuli und Inseln)	362
d) Die apothelialen Gewebe (vorwiegend retikuläre Formationen)	373
α) Das Bindegewebe und seine Abkömmlinge	373
β) Das Muskelgewebe	393
γ) Das Nervengewebe	396
Primäre, kernfreie Nervenbahnen S. 396. — Kernhaltige, nervöse Gitter S. 407. — Neuroepithel und seine Potenzen S. 415.	
e) Wachstum isolierter Elemente (Zellkolonien), die keine Neigung zur Bildung fester Gewebeverbände zeigen (Blutzellen, lymphatische und myeloische Gewebe am Anfang der Explantation)	420
f) Das Wachstum von Geschwülsten in vitro (Kieselgurgranulome, Sarkome, Karzinome)	433
g) Das „organoid“ Wachstum in vitro	440
h) Zusammenfassende Betrachtung über Gewebewachstum in vitro. Die Unterschiede zwischen Wachstum in vitro und Wachstum in situ S. 442. — Die „sekundären Potenzen“ S. 445. — Die in vitro nicht möglichen Formbildungen S. 445. — Wachstum und Altern der lebendigen Substanz S. 451. — Die Bedeutung der Wundflächen S. 453.	442
i) Die Bedeutung der Nährböden	454
α) Die protektiven Medien	454
β) Plasma und Serum	457
γ) Die wachstumsfördernden Substanzen	460
δ) Die künstlichen Nährböden	462
E. Die Organexplantation	465
a) Fragestellungen	465
b) Technik	466
c) Die ersten Ergebnisse	473
α) Künstliche und natürliche Medien	473
β) Einige physiologische und histologische Befunde	477
F. Schlußbetrachtung	482
Literatur	484

A. Einleitung.

Es ist nicht beabsichtigt, alle Probleme der Explantationsforschung zur Sprache zu bringen. Sondern es werden zwei Fragen im wesentlichen zu erörtern sein: Der augenblickliche Stand der Technik der Explantation *in vitro* und einige hauptsächliche Ergebnisse auf dem Gebiete der Histologie der Explantate. Die zahlreichen Anwendungen der Methode (Bakteriologie, Pharmakologie, Stoffwechselfysiologie, Serologie) bleiben hier zunächst unberücksichtigt.

Mit der Einführung der Organexplantation hat die Technik neue Impulse erhalten und ein völlig neues Gebiet experimentell-biologischer Untersuchungen eröffnet. Auch in der Gewebezüchtung haben sich neue Methoden herausgebildet, hauptsächlich gekennzeichnet durch den Übergang von der einfachen Flaschentechnik zur Durchströmungsmethode. Die ursprüngliche, so einfache Deckglasmethode ist abgelöst worden durch kompliziertere Verfahren (W. H. LEWIS und GEY, DE HAAN, A. THOMAS, CARREL).

Im Abschnitt „Gewebezüchtung“ wird nur von den Geweben als solchen gesprochen werden unter Ausschaltung aller Probleme der feineren Protoplasmastruktur und Kernstruktur sowie des Mitosenproblems. Es sollen die wesentlichen, formbildenden Tendenzen, die das Wachstum *in vitro* von demjenigen *in situ* unterscheiden, dargestellt werden unter Verzicht auf alle Einzelheiten, die nicht zum Wesen des Wachstums *in vitro* gehören.

Von RÖSSLE ist darauf hingewiesen worden, daß von allen elementaren Eigenschaften des Lebens das Wachstum zu denjenigen gehört, welche am schwersten zu begreifen sind. Gestaltlich gut durchforscht haben sich doch die betreffenden Phänomene *in situ* infolge des komplizierten und wechselvollen Ineinandergreifens so vieler und heterogener Prozesse einer kausalen Analyse als schwer zugänglich erwiesen. Es wird zu prüfen sein, inwieweit die vereinfachten Formbildungsvorgänge *in vitro*, wo viele komplizierende Faktoren ausfallen, geeignet sind, einen Beitrag zur Klärung der angeschnittenen Problematik zu liefern, und welche allgemeine Stellung die Explantation *in vitro* bei diesen Grundfragen biologischer Forschung zu behaupten hat.

Ein lebender, ganzer Organismus ist in seinem Wachstum begrenzt, und seine Existenz ist auch zeitlich begrenzt, er ist sterblich. Zerschneiden wir ihn in kleine Teilstücke von bestimmter Größe und explantieren diese in einen neuen Lebensraum, so erweisen sich die Fragmente nicht nur als unbegrenzt wachstumsfähig, sondern sie sind auch theoretisch unsterblich. — Dieser Sachverhalt ist von großer Tragweite. Neben die Histologie toter, fixierter und gefärbter Präparate reiht sich als neue Wissenschaft die Histologie lebender Objekte, die im Werden, als Prozeß erfaßt werden können, während sich die klassische Histologie auf Zustandsbilder stützte. Weiterhin erfährt das Potenzproblem eine neue Bearbeitung von neuen Gesichtspunkten aus.

B. Wesen der Explantationsmethode¹. Der neue, künstliche Lebensraum.

Die Methode der Explantation *in vitro* ist aus anatomischen Fragestellungen heraus entwickelt worden. Als HARRISON in den Jahren vor 1907 seine ersten Versuche anstellte, ging er aus von dem Problem der Nervenentwicklung und versuchte, auf einem neuen, experimentellen Wege die Gegensätzlichkeit, die bestand zwischen Neuronentheorie und Kontinuitätstheorie — den Gegensatz CAJAL-HELD letzten Endes — zu klären. Dieselben Untersuchungen hat H. BRAUS ausgeführt mit der gleichen Methodik, am gleichen Objekt und zur gleichen Frage (s. auch W. H. LEWIS 1912). Die genannten Forscher bedienten sich der Methode des hängenden Tropfens, der sogenannten Deckglasmethode.

Mit der Einführung dieser neuen Methode hat die experimentelle Morphologie eine wichtige Erweiterung erfahren. Die Epoche des biologischen Experimentes ist eingeleitet worden von W. ROUX mit den bemerkenswerten Worten, daß der Hauptweg, der uns zu sicherer Erkenntnis der Ursachen organischer Gestaltung führe, der des Experimentes sei, dieses großen Hilfsmittels des Menschen, mit dem er die Natur zwingt, auf seine Fragen Antwort zu geben². Das Suchen nach formbildenden und formerhaltenden Prinzipien, die wissenschaftlichen Bestrebungen, eine genaue Klärung aller jener Faktoren durchzuführen, von welchen Formbildung, letzten Endes abhängig ist, haben zur Entwicklung besonderer Methoden geführt, deren Resultate allgemein bekannt sind (W. ROUX, H. DRIESCH, SPEMANN, MANGOLD, VOGT, DÜRKEN u. a.). Die Methodik einer kausal-analytischen Morphologie kann von verschiedenen Punkten aus das fragliche Aufgabengebiet in Angriff nehmen. TH. H. MORGAN weist darauf hin, daß die Notwendigkeit des durch ROUX begründeten experimentellen Verfahrens in der Morphologie uns heute so einleuchtend erscheine, daß wir geneigt sind, den starken Widerstand zu vergessen, den diese wissenschaftlichen Bestrebungen zuerst erfahren haben. Ähnliches gilt bis zu einem gewissen Grade heute noch für die Methode der Explantation *in vitro*, die man als eine „unphysiologische Methode“ bezeichnet hat (GOERTTLER³).

Die Tatsache allein, daß der CARRELSche Fibroblastenstamm des Rockefeller-Institutes heute 27 Jahre alt ist, genügt, um den Vorwurf des „Unphysiologischen“ zu entkräften. Wir haben in der Kultur lebendes und ungeformtes Material vor uns, das in vieler Hinsicht Objekt der Forschung sein kann. Die technischen Schwierigkeiten bei der Handhabung der Methodik haben, wie A. FISCHER betont, abgesehen von

¹ Dieser Abschnitt sowie die späteren Abschnitte C und E enthalten in erweiterter Form das, was ich in meinem Vortrag auf dem 46. Deutschen Anatomenkongreß in Leipzig, 1938, gesagt habe.

² Roux, W.: Die Entwicklungsmechanik der Organismen, eine anatomische Wissenschaft der Zukunft, 1889.

³ GOERTTLER: Probleme und Möglichkeiten einer Gewebezüchtung *in vivo* statt *in vitro*. Anat. Anz. 87, Erg.-H. (1939).

anderen, undurchsichtigen Beweggründen dazu beigetragen, daß sie von mancher Seite kritisch und ablehnend beurteilt wird. — Die bisherigen Untersuchungen an den lebenden Geweben *in vitro* haben eine Reihe von Tatsachen ergeben, die auf sicherer Grundlage stehen, von großer Tragweite sind und das noch junge Arbeitsgebiet als aussichtsreich kennzeichnen (s. oben und später). Die Probleme, die wir an den Zellen und Geweben *in vitro* studieren, sind dieselben, die wir seit langem mit den verschiedensten Mitteln zu lösen bemüht sind. Diese Probleme sind in gewisser Hinsicht in den Kulturen sehr exakt zu bearbeiten, weil die elementaren Eigenschaften der Zellen der Untersuchung zugänglich werden, ohne durch andere Faktoren wie im Organismus maskiert zu sein (G. LEVI). Die Kultur bietet außerdem den Vorzug der Lebendbeobachtung. Es fallen ferner alle jene Nachteile des Schnittpräparates weg, die die morphologische Untersuchung gewisser Strukturen *in situ* (Nervengewebe!) so sehr erschweren. Wir haben hier natürlich gewachsene Häutchen vor uns, die, abgesehen von den physiologischen und kausal-analytischen Untersuchungsmöglichkeiten, der deskriptiven Histologie ein neues und interessantes Arbeitsfeld eröffnen. Ihre volle Bedeutung aber bekommt, wie v. MÖLLENDORFF betont, die Gewebezüchtung, wenn sie zur zielbewußten Experimentalmethodik ausgebaut wird. Hierzu ist aber genau so wie beim Experiment am Organismus eine vollständige Kenntnis der „normalen“ Beschaffenheit des Materiales und seines Lebensraumes notwendig.

Für die Vorgänge *in vitro* hat man den Ausdruck „Kultur“ oder andere, wie „Explantat“, „Isolat“, geprägt. CARREL unterscheidet außerdem zwischen „Kultur“ und „überlebendem“ Gewebe (s. später). Aus Gründen der Sachlichkeit erscheint uns der Ausdruck „Explantat“ am besten geeignet und wird hier vorwiegend angewandt werden. Wir verstehen darunter ein aus dem korrelativen Verband des Ganzen herausgenommenes Fragment lebenden Gewebes oder auch ein ganzes Organ oder eine Organgruppe (s. unter Organexplantation), die in einen neuen, künstlichen Lebensraum verpflanzt worden sind, wo sie weiterleben, zunächst ganz abgesehen davon, ob sie aktiv wachsen oder nicht.

Die Stellung der Kultur *in vitro* oder des Explantates im System der Lebewesen bedarf noch einer kurzen Erörterung. Es kann kein Zweifel bestehen, daß das Explantat ein neues Eigenwesen ist, eine bisher unbekannte Erscheinungsform lebendiger Materie, in gewissem Sinne eine biologische Neuschöpfung des experimentierenden Forschers. Denn das Explantat lebt, hat Stoffwechsel, wächst und gedeiht für sich und ist außerdem theoretisch unsterblich, besitzt also bis auf das Letztere alle Charakteristika lebender Organismen. Wir haben die Phänomene *in vitro*, um ihre Besonderheit zu kennzeichnen, als „transindividuelle Lebensvorgänge“ bezeichnet (K. BAUER). Aus diesem Sachverhalt ergibt sich von selbst die Notwendigkeit, daß dieses neue Eigenwesen einer genauen anatomischen und physiologischen Analyse unterzogen werden

muß in allen seinen verschiedenen Phasen der Existenz wie jedes andere auch. Es erscheint uns aber zu weit gegangen, wenn man glaubt, daß damit der Grundstein zu einer neuen Wissenschaft gelegt ist (DOLJANSKY, EPHRUSSI). Diese Forscher sehen in einer genauen und detaillierten Beschreibung und Erforschung der Kultur in vitro mit allen modernen Mitteln der Untersuchungstechnik die einzige und zentrale Aufgabe. Diese Einstellung ist gewissermaßen das Gegenstück zu einer anderen weitverbreiteten Meinung, daß die ganze Explantationsforschung eine rein technische Angelegenheit und Kuriosität sei. Demgegenüber stellen wir fest, daß die besonderen Aufgaben der Methode der Explantation durch ihre technische Eigenart und Besonderheit gegeben sind, daß weiterhin aber auch durch die Verbindung mit der allgemeinen und speziellen, durch Anatomie und Physiologie gestellten Problematik fruchtbringende Arbeit geleistet werden kann.

Der technische Fortschritt der Explantationsforschung, der im Anschluß an HARRISON durch A. CARREL und seine beiden Mitarbeiter BURROWS und EBELING sowie durch W. H. LEWIS zustande kam, brachte eine Erweiterung der Anwendungsmöglichkeiten, die über die ursprüngliche, rein anatomische Zielsetzung hinausging und viele Gebiete der Medizin erfaßte. Dieser technische Fortschritt wurde herbeigeführt durch die Weiterentwicklung der einfachen Deckglasmethode zur Flaschenmethodik und durch die exakte Bearbeitung des Problems „Nährboden“.

Aus dem gesamten Fragenkomplex technischer und methodischer Natur sei hier eine herausgegriffen: Die Frage des Lebensraumes der Kultur. Denn diese ist die zentrale Frage der Explantationsmethodik überhaupt, und sie ist zugleich auch geeignet, deren Besonderheit im Rahmen der entwicklungsmechanischen Arbeitsmethoden klarzustellen¹. Unter „Explantation in vitro“ verstehen wir diejenige biologische Methode, die es gestattet, lebende Gewebe und Organe aus dem natürlichen Zusammenhang eines geordneten Ganzen herauszunehmen und in einem neuen und künstlichen Lebensraum zum Wachsen zu bringen oder auch nur zu erhalten bei intakter Form und Funktion, in einem Lebensraum, *dessen Gestaltung in biologischer, chemischer und physikalischer Hinsicht ganz in der Hand des experimentierenden Forschers liegt*. — Aus diesem methodischen Sachverhalt ergeben sich eine Reihe von Konsequenzen und Möglichkeiten für die Anwendung auf die Hauptfragen der kausalen Morphologie, zunächst wenigstens zwei besonders naheliegende: Erstens die Notwendigkeit einer genauen morphologischen Analyse der in vitro auftretenden anatomischen Neubildungen und zweitens die Notwendigkeit einer genauen Analyse derjenigen Faktoren und Bedingungen, von welchen Wachstum, Formbildung oder, allgemeiner gesagt, Leben außerhalb eines ganzen Körpers überhaupt abhängig sind.

¹ VOGT, W.: 3. Internationaler Zellforscherkongreß, Cambridge 1934.

Die Versuche, auf einem solchen oder ähnlichen Wege tieferen Einblick zu gewinnen in den komplizierten Mechanismus gewisser Vorgänge des ganzen Körpers, gehen weit zurück bis auf HAECKEL, VIRCHOW, COHNHEIM u. a., die leicht zu isolierende -Körperzellen, wie Blutelemente, Flimmerepithelien, Eizellen oder auch ganze Gefäßabschnitte, für kurze Zeit lebend beobachten konnten. Die wissenschaftlichen Bemühungen, die verschiedenen anatomischen Strukturen im lebenden Zustande über längere Zeit hin zu untersuchen, sind die kräftigsten Impulse gewesen, die schließlich mit dazu beigetragen haben, die Entwicklung einer Explantation in vitro zu fördern und anzuregen. Die Versuche, am lebenden, ganzen Organismus (COHNHEIM) mikroskopische Untersuchungen anzustellen, werden von CLARK, SPEIDEL u. a. (vorher MAXIMOW, MARCHAND) mit verschiedenen und neuen Mitteln fortgesetzt und verfeinert.

Verglichen mit den Regenerationsmethoden in situ, den Transplantationsmethoden SPEMANNs und seiner Schüler, den Methoden der Implantation in natürliche Körperhöhlen oder Körperhüllen (Ektodermbläschen), wie sie von SPEMANN, ERDMANN, DÜRKEN, VOGT, MURATORI, BAUTZMANN, GOERTLER, HOLTFRETER) unternommen worden sind, ist das Wesentliche der Explantation in vitro, daß zunächst einmal alle jene problematischen Korrelationen, Abhängigkeiten, Ganzheitsbeziehungen, induzierenden Einflüsse und viele andere komplizierende Faktoren bewußt ausgeschaltet werden, die im Körper bestehen und eine kausal-analytische Untersuchung des ausdifferenzierten oder sich differenzierenden Organismus so sehr erschweren. Nicht lebendes Gewebe umgibt das Explantat in vitro, sondern das Wachstum findet statt in einem homogenen und *zellfreien* Milieu. Daß hier ein wichtiges entwicklungsmechanisches Problem vorliegt und bearbeitet werden kann, zeigen die Arbeiten von HOLTFRETER und seine Bemühungen um die technische Entwicklung einer Explantation „in vivo“ (s. auch BAUTZMANN). Die Hauptforderungen, die man für den Nachweis des Selbstdifferenzierungsvermögens eines bestimmten Keimbezirkes z. B. an das Isolationsexperiment zu stellen habe, werden folgendermaßen zusammengefaßt: Ausschaltung aller induzierend wirkenden Außenfaktoren und Darbietung einer Umgebung, die im übrigen die elementaren Lebensvorgänge der Zelle, wie Atmung und Ausscheidung der verbrauchten Stoffe, ungehindert gestattet. — Die genannten Forscher gehen gewöhnlich so vor, daß das zu untersuchende Objekt (Kaltblütermaterial) in die Bauchhöhle, Orbita oder in ein isoliertes Ektodermstückchen verpflanzt wird. Das Ektodermstückchen bildet eine natürliche Hülle um das zu untersuchende Keimfragment. In gewisser Hinsicht ist das natürlich auch ein „Explantat“. Doch unterscheidet es sich von unseren gewöhnlichen Kulturen in vieler Hinsicht. Es ist zunächst ein komplexes Gebilde, welches keine *Reinkultur* darstellt, und zum anderen, es finden die fraglichen Wachstums- und Differenzierungsprozesse in einer *natürlichen Hülle* statt, sie stehen

also nicht in unmittelbarer Beziehung und Wechselwirkung zum umgebenden künstlichen Milieu, sondern spielen sich *innerhalb einer lebendigen Membran* oder Umgebung ab. Das ist zu beachten, und solche Phänomene, die mit Teilstückchen von Säugerembryonen von MAXIMOW, FELL, MARTINOVITCH u. a. *in vitro* erzielt worden sind, werden als „*Explantate komplexer Gewebe mit kontrolliertem Wachstum*“ bezeichnet (THOMSON). Wir kommen später genauer darauf zurück (Abschnitt: D, g).

Gegenüber den Versuchen der Explantation „*in vivo*“ mit Kaltblütermaterial verdient also festgehalten zu werden, daß sich die Kultur *in vitro* im Sinne CARRELS unterscheidet erstens durch die Möglichkeit der Lebendbeobachtung mit starken Vergrößerungen, zweitens dadurch, daß es sich oben um ein „kontrolliertes“ Wachstum handelt, während die Kulturen CARRELS ein „unkontrolliertes“ Wachstum (Reinkulturen) zeigen, und schließlich durch die Tatsache, daß der Experimentierende selbst den neuen Lebensraum in allen Details schafft, beeinflußt und zu gestalten hat, daß die Zellen und Gewebe hinsichtlich Ernährung, Stoffwechsel und Ausscheidung in unmittelbarer Beziehung zum künstlichen Nährboden stehen, von dem sie die ihnen adäquaten Stoffe aufnehmen. Auf diese Weise bieten sich Vorteile bei der Untersuchung und Prüfung organisierender, induzierender Effekte und Substanzen. Durch Operationen am Nährboden und am neuen künstlichen Lebensraum wird es der Forschung mit der Zeit möglich werden, eine genauere, chemische und physikalische Analyse aller jener Kräfte durchzuführen, die für die Klärung des Problems der histologischen Differenzierung und der damit zusammenhängenden Fragen (Mitose), die uns hier in erster Linie angehen sollen, von so großer Bedeutung sind. — „Eine vollständige Umgrenzung der allgemeinen Lebensbedingungen geben, hieße ... das Problem der allgemeinen Physiologie lösen“ (PÜTTER). Physiologische und morphologische Forschung berühren sich hier sehr eng. Die Methode der Explantation *in vitro* im eben gekennzeichneten Sinne ist geeignet, einen Beitrag zur Klärung der angeschnittenen Problematik zu liefern durch die gegebene Möglichkeit der Festlegung der sogenannten Kardinalpunkte des Lebens, d. h. der Maxima, Minima und Optima für die einzelnen Gewebe und Organe nicht nur in bezug auf die allgemeinen Lebensbedingungen, sondern auch auf die speziellen, soweit es die histogenetische Differenzierung und sonstigen Besonderheiten des Wachstums angeht.

CARREL weist darauf hin, daß die wissenschaftliche Anatomie ihr Augenmerk vorwiegend auf die durch die Eigenart unserer Fixier- und Färbemethoden bedingte Darstellung der *soliden* Bestandteile und Strukturen des lebendigen Körpers gerichtet habe und die Existenz der perizellulären Flüssigkeiten ganz vergessen habe. Die Unterscheidung von Zelle oder kernhaltiger, protoplasmatischer Substanz und Medium sei ebenso künstlich wie diejenige von Struktur und Funktion. Die Gewebe und Organe bestehen nicht nur aus Zellen, sondern auch aus Flüssigkeiten, deren chemische und physikalische Zusammensetzung und

Besonderheiten den strukturellen und funktionellen Ausdruck der immanenten Eigenschaften der Zellen bestimmen. „Le corps est un continuum hétérogène, fait des tissus et des liquides“ (CARREL). Von einer anderen Seite ist dasselbe gesagt worden. BENEKE¹ stellt fest, daß das Problem des Wachstums in erster Linie an die Auffassung von der Bedeutung der einzelnen *festen* Bestandteile des Organismus geknüpft ist. „Von den quantitativen Verhältnissen der *flüssigen Bestandteile* eines Zellterritoriums ist eine sichere Vorstellung nicht zu gewinnen“, sie entziehen sich in ihrem ewigen Zu- und Abfließen jeder Darstellungsmethode, sehr zum Schaden der allgemeinen Vorstellung von dem Wesen und Umfang eines solchen Territoriums (s. a. RÖSSLE). Die Methode der Explantation rückt die Aufklärung der genannten Probleme in den Bereich des Möglichen. Denn wir haben hier Wachstum eines begrenzten Fragmentes oder eines Organes in einem flüssigen oder festen Milieu von bekannter Zusammensetzung vor uns.

Die kernhaltige, protoplasmatische Masse antwortet auf Veränderungen des „milieu intérieur“ (CL. BERNARD) mit Veränderungen ihrer anatomischen Struktur. Es sei hier nur kurz hingewiesen auf die so wichtige Tatsache, die sich unter anderem aus der Gewebezüchtungsforschung ergeben hat, nämlich die verschiedenartige und gegensätzliche Wirkung, welche der Embryonalextrakt einerseits und das Serum andererseits in bestimmter Dosierung auf das Verhalten der Elemente in vitro ausüben. Durch die Explantation in vitro im Sinne CARRELS ist also die Möglichkeit gegeben, die Beziehungen der drei verschiedenwertigen Organisationsstufen von Körpersubstanz, Kern — Protoplasma — Gewebeflüssigkeit, genauer zu klären, quantitativ und qualitativ zu erfassen, so wie BENEKE es auch gefordert hat (s. oben); es ergibt sich ein methodischer Weg, Beziehungen im Sinne kausaler Abhängigkeitsverhältnisse zwischen dem anatomischen Bild der kernhaltigen protoplasmatischen Masse und der Beschaffenheit des umgebenden Mediums aufzufinden und mit den Methoden der Physik und Chemie zu analysieren. Auf diese Weise kann an die Bearbeitung einer der wichtigsten Fragen herangegangen werden, einer Frage, die W. HIS folgendermaßen formuliert hat: „Vor unseren Augen sehen wir die Gewebe sich aufbauen, und zwar alle aus demselben elementaren Baustein, der Zelle. Diese Zelle aber, obwohl mit reichen, inneren Kräften ausgestattet, entwickelt sich nur in innigster Abhängigkeit von äußeren Lebensbedingungen, und auf vorübergehende äußere Einwirkungen reagiert sie alsbald, sei es mit Abänderung ihrer Vegetation, sei es durch anderweitige Abänderung ihrer Lebenserscheinung. Im allgemeinen zeigt sich, daß ein auf die Zelle wirkender Reiz diese zum Wachstum und zur Vermehrung bestimmt. Wenn nun dieselbe Zelle einmal zur Muskelfaser, ein anderes Mal zum Blutkörper, ein drittes Mal zum Gefäßendothel wird, wenn sie ferner einmal Glutin, ein anderes Mal Chondrin, ein drittes Mal elastische

¹ BENEKE: Verh. dtsch. path. Ges. Gießen 1935.

Substanz ausscheidet, so liegt darin die Aufforderung, zu untersuchen, warum denn eigentlich hier das eine, dort das andere Gewebe entsteht, und es erwächst für die Physiologie geradezu die Aufgabe, einerseits die Gesetze der Abhängigkeit der Zellen von äußeren Lebensbedingungen genau zu präzisieren, andererseits aber jenes System sich gegenseitig auslösender Reize zu ermitteln, das beim Aufbau der einzelnen Gewebe sowie bei dem des Körpers überhaupt in Kraft tritt.“

Die Lösung dieser Aufgabe ist abhängig vom Fortschritt der Technik (CARREL). Die Verwirklichung der genannten Probleme und methodischen Ziele bedeutet aber zugleich auch die praktische Verwirklichung der lange und oft geforderten Synthese zwischen anatomischer und physiologischer Forschung. Es ist vielfach darauf hingewiesen worden, daß anatomische und physiologische Forschung unter dem Mangel einigender Zentralideen empfindlich zu leiden haben. Die Lage ist durchaus nicht so einfach, daß Anatomie und Physiologie das fragliche Problemgebiet, die lebendige Struktur und Form, unter sich aufteilen und in wechselseitiger Ergänzung ihrer Resultate wieder zusammenschließen könnten. Eine solche Betrachtung ist einseitig und bringt immer nur einen Teil der beiderseitigen Probleme zur Darstellung, vielfach aber gehen die Untersuchungen ganz beziehungslos nebeneinander her.

In der Kultur *in vitro* haben wir vereinfachte Formbildungsvorgänge vor uns, die der Experimentierende selbst bis zu einem gewissen Grade gestaltet und die aus dem komplizierten, ganzheitsbezogenen Geschehen *in situ* herausgelöst sind, aber in besonderer Weise doch das Ganze widerspiegeln in allen seinen elementaren Lebensäußerungen. Hier findet die Physiologie natürlichen Anschluß an die Morphologie und umgekehrt. Denn die Gestaltung des neuen künstlichen Lebensraumes für das Explantat macht das Ineinandergreifen der beiden Disziplinen absolut notwendig. Auch von physiologischer Seite ist auf die Notwendigkeit einer Synthese hingewiesen worden. Die Probleme der Physiologie beginnen, mehr und mehr mit Entschiedenheit eine Verfolgung *in die Zelle* zu fördern, äußert sich VERWORN (s. auch RH. ERDMANN). Unter diesen Gesichtspunkten betrachtet bedeutet das Herausgreifen der aufs engste zusammenhängenden morphologischen und physiologischen Fragen und Grundlagen der Explantationsforschung nicht willkürlich herausgestellte Problematik unter Vernachlässigung der sehr wichtigen Applikationen der Methode, sondern entspricht einer aktuellen Forderung, die durch die augenblickliche Lage unserer Wissenschaft gestellt ist.

C. Die Technik der Gewebezüchtung.

Die bekannte Deckglasmethode kann heute als überholt betrachtet werden. Sie ist vorzüglich geeignet, um von Anfängern geübt zu werden, um die richtige Behandlung des Materiales zu erlernen. Wir beschränken uns in diesem Abschnitt auf eine kurze Darstellung der verschiedenen Flaschentechniken unter Ausschaltung der operativen Maßnahmen

und Methoden im einzelnen. Für die Handhabung des Kulturverfahrens ist allerdings dieser letztere Punkt sehr wichtig. Wir verweisen hier auf die zuständigen Angaben in den Arbeiten von A. CARREL, W. H. LEWIS, M. R. LEWIS, A. FISCHER.

Die Technik der Gewebezüchtung ist komplizierter geworden. Von der relativ einfachen Deckglasmethode ist die Entwicklung zur sogenannten Flaschentechnik vorgeschritten, die größere Vorteile bietet und größeren Spielraum für die mannigfaltigsten Untersuchungen gestattet. Die Entwicklung der Flaschenmethode hat mit der Konstruktion der Organflasche (CARREL, LINDBERGH) einen gewissen Abschluß — theoretisch wenigstens — gefunden.

Die sogenannte Deckglasmethode, die Züchtung im hängenden Tropfen, wohl auch heute noch die am meisten gebräuchliche, gestattet, Wachstum über längere Zeit hin zu erhalten und zu beobachten. Es sind aber ständige mechanische Eingriffe in kurzen, zeitlichen Intervallen an der Kultur notwendig, die sogenannte Umsetzung (s. S. 349), weil der Lebensraum zu klein ist und sowohl die giftigen Stoffwechselprodukte entfernt als auch neue Nährstoffe zugeführt werden müssen.

Über die Bedeutung des Lebensraumes als einer allgemeinen Lebensbedingung haben die Untersuchungen von SEMPER¹, GOETSCH, WEISS u. a. interessante Ergebnisse gebracht. Beeinträchtigung des Lebensraumes führt zu Beeinträchtigung des Wachstums, der Größe usw. Dasselbe, was dort für ganze Individuen, wie Planarien, Fische u. a. nachgewiesen worden ist, gilt in gewisser Weise auch für die Kultur in vitro.

Nach PÜTTER² ist das Volumen des Mediums für die freilebenden Zellen durch äußere Bedingungen bestimmt, für die Zellen im Gewebeverband aber durch die Beschaffenheit des Organismus. Wenn das Volumen freilebender Zellen mit dem Medium verglichen wird, in welchem sich die Anhäufung der Stoffwechselprodukte durch völligen Wachstumsstillstand und Vermehrungsstillstand geltend macht, und andererseits das Volumen der Gewebezellen eines Organismus mit dem seiner Gewebeflüssigkeit, so scheint der Lebensraum bei den einzelnen Zellen im Gewebe viel enger zu sein. PÜTTER weist nach, daß im menschlichen Körper die Zellen ein Volumen haben, welches das der Gewebeflüssigkeit um das Fünffache übertrifft. „Von dem System: Zelle + Gewebeflüssigkeit entfallen etwa 83 % auf die Zellen, 17 % auf das Außenmedium“ (PÜTTER). Der Autor meint, daß es nicht etwas Positives sei, was die Forderung nach einem gewissen Lebensraum für jedes Individuum zum Ausdruck bringe, sondern etwas Negatives: Die Vermeidung von Schädigungen, seien sie chemischer (unspezifische oder spezifische Stoffwechselprodukte), seien sie mechanischer (Stoßwirkungen) oder reizphysiologischer Art.

Das Verhältnis: Zelle + Gewebeflüssigkeit (s. a. BUCHSBAUM) ist in vitro ein anderes, je nach der angewandten Technik verschiedenes. In diesem

¹ SEMPER: Die natürlichen Existenzbedingungen der Tiere. Leipzig 1880.

² PÜTTER, A.: Allgemeine Lebensbedingungen. Handbuch der normalen und pathologischen Physiologie, Bd. I, S. 322ff. (1927).

Punkte ist das *in vitro* gezüchtete Gewebe eher den freilebenden Zellen zu vergleichen im oben beschriebenen Sinne, d. h. das Volumen der Gewebeflüssigkeit — des Mediums — übertrifft das der gesamten Kernplasmassubstanz des explantierten Fragmentes um ein Beträchtliches.

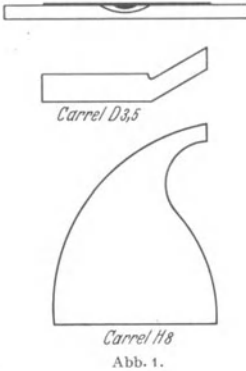


Abb. 1.

Die Kantenlänge des ausgepflanzten Gewebestückchens liegt gewöhnlich zwischen 1 und 2 mm. Das Medium beträgt in der Deckglaskultur 1 bis 2 Tropfen (Plasma und wachstumsfördernde Substanz), d. h. etwa 0,05 bis 0,1 ccm. Dieses Verhältnis wird aber ganz anders in der Flasche vom Typ D 3,5. Hier kann das Medium größere Quantitäten erreichen, von 1,0 bis zu 5,0 ccm in der Flasche H 8. Solche Kulturen brauchen nicht umgesetzt zu werden im üblichen Sinne, sondern können in einem Zustande des Wachstums oder auch in einem Ruhezustande ohne Wachstum oder mit verzögertem Wachstum sehr lange Zeiträume, ohne mechanischen Eingriffen ausgesetzt zu sein, in den betreffenden Flaschen gehalten werden. Die besondere Behandlung und Auswahl des Nährbodens gestattet es in viel größerem Maße, als das bisher der Fall war, das Wachstum zu beherrschen, zu steuern, zu hemmen, zu beschleunigen, überhaupt zu gestalten, wie der Experimentator es für seine besonderen Zwecke gerade nötig hat (s. weiter unter Nährboden, S. 454). Auf solchem Wege ist es gelungen, Gewebefragmente jahrelang *in der gleichen Flasche* zu halten (CARREL, EBELING, A. FISCHER, W. H. LEWIS).

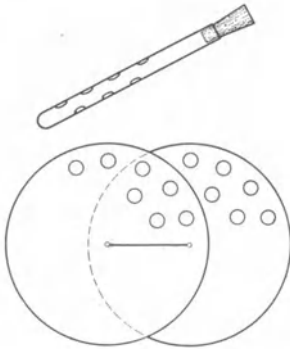


Abb. 2.

In der Flasche H 8 (CARREL) (Abb. 1) lassen sich große Mengen von Fragmenten (70—100 Stück) auf einmal explantieren. Das hat den Vorzug, daß es auf diesem Wege leichter ist, gewisse Stoffwechseluntersuchungen auszuführen oder biologische Fähigkeiten, wie Antikörperbildung, zu prüfen. In solchen Flaschen wurden im CARRELSchen Laboratorium Milzfragmente in großer Anzahl in einem Zustand des Überlebens ohne Wachstum für lange Zeiträume gehalten. Nach wochenlangem Aufenthalt zeigten die Fragmente intakte Struktur mit Milzkörperchen usw. im Inneren. Es handelt sich dabei gewissermaßen um eine Art primitiver Organstückexplantation.

Die "roller tube method" von W. H. LEWIS und GEY (Abb. 2) beruht auf dem Prinzip, die Kulturen öfters zu waschen, ohne die Flaschen zu öffnen. Zu diesem Zwecke benützt LEWIS Röhrchen von der annähernden Größe eines gewöhnlichen Reagensgläschens und setzt die Kulturen

in gewissem Abstände voneinander an die Innenfläche des Glases an. Es wird dabei in flüssiger Phase gezüchtet. Die steril verschlossenen Röhrchen werden nahezu horizontal oder mehr schräg in entsprechende Öffnungen zweier rotierender Scheiben gestellt, welche durch einen Elektromotor in Bewegung versetzt werden (s. Abb. 2). Die Scheiben rotieren einmal oder zweimal in der Stunde je nach Einstellung der Maschine. Auf diese Weise kommen die Kulturen ein- oder zweimal stündlich in innige Berührung mit der Flüssigkeit, die nach gewisser Zeit abpipettiert und ersetzt wird. LEWIS konnte Sarkomgewebe auf solche Weise bis zu 5 Jahren in derselben Flasche halten. In bestimmten Abständen wird der Nährboden gewechselt, wobei die Größe des pH eine besondere Rolle spielt.

Die Apparate von BURROWS und der von ROMEIS haben sich nicht eingeführt. Die Methode von DE HAAN beruht auf einem ähnlichen Prinzip wie die "roller tube method" von LEWIS, nur wird in diesem Falle eine regelrechte Durchströmung der feuchten Kammer zustande gebracht. Als Flüssigkeit wendet DE HAAN seine bekannte Nährlösung an, die durch Injektion von verdünnter Kochsalzlösung in die Bauchhöhle von Kaninchen gewonnen wird. Etwa 48 Stunden nach der Injektion wird punktiert, und es ergibt sich eine eiweißhaltige Flüssigkeit, die nach DE HAAN dem verdünnten Plasma entspricht. Die DE HAANSche Kammer hat je ein Zufluß- und Abflußrohr und wird von einem abnehmbaren Deckel verschlossen. Eine Reihe von Spezialflaschen sind weiter angegeben und verwandt worden von A. THOMAS, DOLJANSKY¹, BORREL u. a. Bei richtiger Handhabung kann man praktisch mit der CARRELSchen Flasche D 3,5 auskommen. Die besondere Form der sogenannten Mikroflasche mit planparallelen, feinen Glasflächen gestattet Anwendung stärkster Vergrößerungen und bietet für Lebendphotographie große Vorteile. Der Verfasser hat hauptsächlich mit der CARRELSchen Flasche gearbeitet und der noch zu besprechenden Durchströmungsflasche und immer die besten Erfahrungen damit gemacht. Um Kulturen zu fixieren und zu färben, empfiehlt es sich, vor dem Ansetzen auf dem Boden der D 3,5-Flasche ein schmales, etwa 4 mm breites Glimmerplättchen einzuführen und die Kultur auf diesem Plättchen zu plazieren. Man kann dann, wenn der Versuch beendet ist, leicht das ganze Glimmerplättchen aus der Flasche entfernen und in toto mit den Kulturen fixieren. Auf diese Weise spart man Flaschen und hat Vorteile bei der mikroskopischen Untersuchung. Entweder setzt man die Kulturen auf Glimmer oder vermeidet es, sie mit dem Flaschenglasboden in Berührung zu bringen (CARREL), indem man sie direkt in das Plasmagerinnsel des Nährbodens hineinsetzt. Die technischen Variationsmöglichkeiten bei der Flasche D 3,5 sind so groß, daß es zu weit führen würde, auf alles einzugehen. Darin liegt aber gerade der Vorzug der CARREL-Flasche, daß sie so viele Möglichkeiten der Handhabung bietet.

¹ DOLJANSKY: Arch. exper. Zellforsch. 13 (1932).

Eine besondere Durchströmungsflasche ist von CH. LINDBERGH (Abb. 3) im CARRELSchen Laboratorium angegeben worden für Gewebekulturen, die geeignet erscheint, für das Studium langsam wachsender Kulturen große Vorteile zu bieten. Bei diesem Apparat kommt es durch Einleiten eines Sauerstoff-Kohlensäure-Stickstoffgemisches zu einer permanenten Zirkulation der Flüssigkeit und zugleich auch zu Sättigung der Medien mit Sauerstoff. Nach der Größe des p_H wird der Wechsel bestimmt. Es wird nur in flüssiger Phase gezüchtet. Eine gewisse Schwierigkeit ist es, in den Flaschen die Wasserstoffionenkonzentration möglichst konstant zu halten. Im allgemeinen wird p_H zu

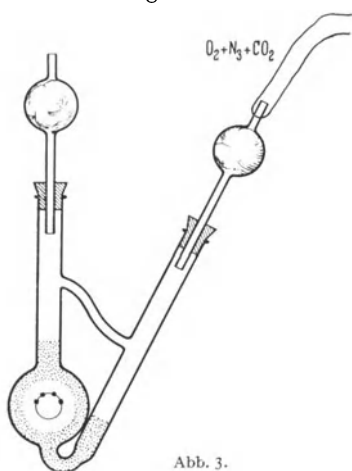


Abb. 3.

Beginn des Versuches auf 7,5 gebracht. Die Wasserstoffionenkonzentration sinkt gewöhnlich im Laufe einiger Tage — je nach Art des Wachstums und Charakter der gezüchteten Gewebe — auf 7,2—7,0. Dann wird Wechsel nötig. Dieser Mediumwechsel erfolgt sehr rasch bei der Lindberghflasche, ohne jegliche mechanische Irritation des Explantates. Das mechanische Prinzip dieser Flasche ist folgendes: In einen senkrecht gestellten Schenkel werden etwa 7 ccm Nährflüssigkeit gebracht, welche besondere Zusammensetzung haben (s. später). Sie sickert langsam durch den Beobachtungsraum (Abb. 3), der die Kulturen in einer

zentralen Partie enthält, während peripherwärts Sand liegt, um zu rasches Fließen der Flüssigkeit zu verhindern. Der Beobachtungsraum hat eine im Querschnitt plankonkave Form. Die Explantate werden nun möglichst zentralwärts zu lokalisieren, was nach einiger Übung sehr gut gelingt. Man kann sie durch einen Mikrotropfen Plasma + Embryonalextrakt dort festhalten. Die Wachstumszonen kommen dadurch in die zentrale Partie zu liegen, dorthin, wo die plane und die konkave Seite der Beobachtungskammer sich am meisten nähern. Das, was in die sandhaltigen Gebiete hineinwächst, fällt natürlich für die Beobachtung aus. Die Nährflüssigkeit sickert nun langsam durch die Kammer und kommt schließlich wieder in den schräg oder spitzwinklig aufsteigenden Schenkel, wo sie allmählich hochsteigt, bis sie wieder in die mit dem ersteren Schenkel kommunizierende Röhre einfließt. Dort ist sie dem Druck des zugeführten Gasgemisches ausgesetzt, sobald die Flüssigkeitssäule den Ansatz der beide Hauptschenkel verbindenden Leitung überschreitet. Das unter gelindem Druck einströmende Sauerstoffgemisch drückt jedesmal einen Tropfen (etwa alle 1—2 Minuten einmal) wieder in den senkrecht stehenden Schenkel. So ergibt sich auf einfache Weise

ein beständiger Kreislauf, verbunden mit ständiger frischer Sauerstoffzufuhr. Das zugeleitete Gasgemisch steht unter kontrolliertem Druck und hat folgende Zusammensetzung: Sauerstoff: Stickstoff: Kohlensäure = 80:17:3.

Die Kulturen können praktisch unbegrenzte Zeit in diesen Flaschen gehalten werden, wenn es gelingt, die Infektion beim Wechsel der Nährflüssigkeit zu vermeiden. Bei einiger Übung und genügender Sorgfalt im Sterilhalten der Arbeitsräume läßt sich das aber sehr leicht erreichen. Die Flasche ist noch wenig angewandt worden und stellt das jüngste Glied in der Kette der mannigfaltigen Flaschentechniken dar. Die Technik des Ansetzens ist etwas komplizierter infolge der mit der genauen Lokalisation der Kulturen verbundenen Gefahren des Drückens und der mechanischen Schädigung der Explantate beim Einbringen. Aber auch das ist zu überwinden.

Die besondere Art des Ansetzens der Kultur, die Lokalisation der Kultur im Medium, die Härte des Nährbodens und die spezielle Zusammensetzung desselben, das Waschen der Kulturen, die Regelung der Sauerstoffzufuhr, die Natur der Waschflüssigkeit und die Natur des Sauerstoffgemisches sind neben der soeben eingehend besprochenen Beschaffenheit der Flaschen weitere sehr wesentliche Fakta, die für das Gedeihen der Kulturen über lange Zeiträume von großer Bedeutung sind. Es ist nicht die Aufgabe dieser Arbeit, spezielle technische Regeln zu geben. Wir verweisen zu diesem Zwecke auf die zusammenfassende Darstellung von A. FISCHER und die Arbeiten CARRELS und die von W. H. LEWIS besonders.

Die „Klinik“ der Gewebekultur umfaßt die Beurteilung des augenblicklichen Lebenszustandes der Kultur und ihrer voraussichtlichen weiteren Entwicklung. Zur Beurteilung stehen uns zwei besonders wichtige Hilfsmittel zur Verfügung: Die Messung der Wasserstoffionenkonzentration und die mikroskopische Beobachtung des morphologischen Zustandes. Zeigt uns der augenblickliche Aspekt der Kultur die Notwendigkeit an, einzugreifen, so sind folgende Entscheidungen zu fällen: a) Umsetzung, b) Waschung ohne Umsetzung, c) frische Nährmaterialzufuhr ohne a und b, d) frische Gaszufuhr ohne a, b, c, e) Temperaturänderung. Das sind wenigstens die häufigsten Eingriffe. Jede der angegebenen Möglichkeiten richtet sich nach der besonderen Fragestellung, unter der die Arbeit steht.

Bei der sogenannten Umsetzung geschieht folgendes: 1. Teilung der Kultur oder Beschneidung ohne Teilung. 2. Befreien der Kultur vom alten Nährboden. 3. Waschen der Kultur. 4. Implantation in neuen Nährboden bestimmter Zusammensetzung. — Die Umsetzung ist also ein recht komplizierter Eingriff in das Leben der Kultur. Sie ist gleichbedeutend mit einer völligen Zerstörung ihrer augenblicklichen morphologischen Architektur. Denn große Teile der Wachstumszone werden entfernt genau so wie der alte Nährboden. Es ist ohne weiteres klar,

daß solche tiefgreifende Operationen, in kurzen zeitlichen Intervallen ausgeführt, wenig geeignet sind zum Studium der immanenten Potenzen der lebenden Masse des betreffenden Gewebestückes. Mit der Einführung der Flasche und besonders der Durchströmungsflasche ist daher ein großer Fortschritt erzielt worden. Hier kann Umsetzung wochenlang vermieden werden. Man kann zur Aufrechterhaltung der Lebensvorgänge mit den unter b, c und d aufgeführten Maßnahmen auskommen.

D. Die Wachstumsformationen in der Gewebekultur und das physiologische Problem ihrer Entstehung.

a) Allgemeines.

Jede Kultur besteht aus 2 Teilen verschiedenen Charakters, aus dem Explantatmutterstück und der Wachstumszone. Demnach sind genau zu unterscheiden histologische Strukturen im Mutterstück und solche in der Randzone, also neugebildete Formationen. Während differenzierte morphologische Strukturen eigentlich immer im Mutterstück junger Kulturen zu finden sind, mehr oder weniger verändert infolge der neuen Ernährungsbedingungen, fehlen sie gewöhnlich in der neugebildeten Randzone oder sind hier nur unter gewissen Bedingungen anzutreffen. Die Schnittuntersuchung eines Mutterstückes aber bietet zunächst der mikroskopischen Untersuchung nur wenig Vorteile. Infolge ungenügender Nährstoffzufuhr treten dort leicht partielle Nekrosen (s. MAXIMOWS „Ganzexplantate“), Verkalkungen usw. auf. Eine Sonderstellung nimmt in diesem Falle das explantierte Nervengewebe ein, besonders Spinalganglienexplantate (G. LEVI), bei denen es häufig zu einem Auseinanderweichen der Mutterstückstrukturen kommt, zu einer auffälligen Auflockerung des Ganzen, die wohl als Folge der besonderen, starken Verflüssigungen zu betrachten sind. Hier lassen sich gewöhnlich höher entwickelte Strukturen erkennen, die aber nicht als Neubildungen aufzufassen sind, sondern bereits vor der Explantation vorhanden waren und überlebt haben.

Vielfach aber finden sich Mutterstückstrukturen in regressiver Phase und werden herangezogen und ausgewertet. So kann ich z. B. die von BARGMANN¹ gemachte Angabe, daß die aus einer Lungengewebeskultur ausgewanderten Makrophagen von den die Alveolenwände im Mutterstückrande bekleidenden Zellen nicht zu unterscheiden wären, und daß die auf den kollabierten Alveolenwänden gelegenen Deckzellen sich in „allen Stadien der Mobilisierung“ befinden, nicht anerkennen. Seiner Zeichnung nach zu urteilen handelt es sich in diesem Falle um Epitheldesquamation infolge regressiver Vorgänge im Mutterstück. Mobilisierte Zellen sehen anders aus (s. unten).

¹ BARGMANN: Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen, Bd. V/3, S. 816. 1936.

Angesichts einer solchen Sachlage der vielfach gänzlich verfehlten Auswahl und Beurteilung histologischer Strukturen in vitro erscheint es notwendig, auf die Worte von W. H. LEWIS hinzuweisen, daß es zunächst darauf ankomme, hauptsächlich Zellen oder Strukturen *in der Wachstumszone* zu untersuchen, wo sie in einer neuen Lage, entfernt vom Explantat, sich befinden und gerade aus diesem Grunde ihr Verhalten und ihr Bau unter günstigeren Bedingungen studiert werden können. Die Ernährungsbedingungen und Lagebeziehungen im Mutterstück sind so grundverschieden von denen in der Wachstumszone, daß man nicht ohne weiteres elementare Strukturen in beiden so verschiedenwertigen Teilen nebeneinanderstellen und vergleichen kann, wenn auch zugegeben werden muß, daß es notwendig ist, sich über die Verhältnisse in den Mutterstücken ein klares Bild zu verschaffen.

Dieser Hinweis erscheint uns in Anbetracht so vieler, recht fragwürdiger Arbeiten auf dem Gebiete der Gewebezüchtung besonders notwendig zu sein. Von A. FISCHER, G. LEVI, DOLJANSKY, E. MEYER u. a. ist vielfach darauf hingewiesen worden, daß ein „Chaos“ auf dem Gebiete der Gewebezüchtungsforschung herrsche und daß „dilettantische Versuche“ geeignet seien, ein falsches Bild von dem Wesen und von den eigentlichen Zielen und Grenzen der Methode zu geben. — Wenn BARGMANN seine Abb. 11 (1936) als „typisches Bild einer lebenden Lungengewebeskultur“ beschreibt, so hat er eine ganz irrtümliche Auffassung vom „typischen“ Wachstum einer Lungenkultur. Es handelt sich in seinem Fall um ein ungewaschenes Lungengewebefragment, dessen sehr zahlreiche Blutzellen aus den Gefäßen in den ersten Stunden in die Wachstumszone hinein ausgeschwemmt wurden. Eine sauber angesetzte Lungengewebeskultur sieht anders aus. J. VERNE hat z. B. das Wachstum korrekt angesetzter Kulturen von Lungengewebe nach richtiger technischer Vorbehandlung in seinen Abbildungen wiedergegeben.

Das Wachstum in vitro findet derart statt, daß sich allmählich um das explantierte Fragment herum mit annähernd gleicher Regelmäßigkeit, Dichte und Intensität in den Nährboden hinein Zellen und Gewebe entwickeln und somit einen peripheren Schleier bilden. Dabei sind zwei hauptsächliche Vorgänge zu unterscheiden: *Zellwanderung* und *Zellproliferation* in der Wanderungszone. Beide Vorgänge sind nicht in jeder Kultur gleichmäßig vorhanden. In Milzkulturen z. B. überwiegen zu Anfang die Wanderungsprozesse aus dem Mutterstück und treten die Proliferationen später auf. Der Grad der Zellwanderung und der der Zellwucherung sind verschieden und abhängig erstens von der inneren Struktur des explantierten Fragmentes und zweitens von der Natur des Nährbodens. Wir wissen, daß z. B. in einer Milzkultur die Monozyten durch Embryonal-extrakt vergiftet werden können und daß dadurch die erste Phase beträchtlich abgekürzt werden kann, so daß die festen Gewebe früher auswachsen. Es ist ferner durch CARREL gezeigt worden, daß arsenige Säure in gewisser Verdünnung keinen Einfluß auf die Auswanderung der Monozyten hat, aber schädigende Wirkung auf Fibroblasten

ausübt, so daß man mit dieser Substanz Mischkulturen von Fibroblasten reinigen kann.

Die Latenzzeit, d. i. die Zeit vom Beginn der Explantation bis zum Einsetzen der Wanderung und Proliferation, ist verschieden und abhängig vom Alter des Versuchstieres (DOLJANSKY, GOLDSCHMIDT, HOFFMANN). Sie ist aber ebenso sehr abhängig von der morphologischen Natur des Gewebes (Nervengewebe!), von der speziellen Nährbodenzusammensetzung, besonders dem prozentualen Gehalt an Serum und Embryonal-extrakt, von der Temperatur, der Härte des Mediums und der Lokalisation der Kultur im oder auf der Oberfläche des Mediums (das gilt besonders für Epithel). Die neuen Versuchsergebnisse mit künstlichen Medien (BAKER und EBELING) zeigen, daß man die Latenzzeit in protektiven Medien bis zu 60 Tagen verlängern kann (s. S. 457). Sie ist also in hohem Maße mit abhängig von den Bestandteilen des Nährbodens.

Man unterscheidet weiterhin in vitro a) Kontrolliertes Wachstum und b) unkontrolliertes Wachstum (THOMSON 1914). Darunter sind zu verstehen: a) ein Wachstum, bei welchem die allgemeine Syntopie der Teile beibehalten wird, d. h. also Wachstum komplexer Gewebe in natürlichem Zusammenhange analog dem geordneten Wachstum in situ [Beispiel: Die Ganzexplantate von MAXIMOW, Keimscheiben oder größere Teile von solchen, die die Tendenz zu „organotypischem“ Wachstum zeigen (FELL, MARTINOVITCH u. a.)], und b) unkontrolliertes Wachstum heißt dasjenige, welches in allen sogenannten Reinkulturen in der Wachstumszone eintritt; es sind jene zeitlich unbegrenzt wuchernden Formationen, die das eigentliche, klassische Objekt der Züchtungsforschung darstellen. CARREL unterscheidet weiterhin zwischen „Wachstum“ und „Überleben“. Bei dem letzteren Vorgang sind die Kulturen gewöhnlich nur kurzlebig und zeigen „Residualwachstum“, d. i. sie wuchern kurze Zeit in einem nährmaterialfreien Medium auf Kosten ihrer residualen Energie, die sie aus dem Körper mitgebracht haben. Diese Residualenergie ist für die einzelnen Gewebe verschieden und erstreckt sich gewöhnlich auf einen Zeitraum von 6—11 Tagen. Hierher gehören aber auch jene Bildungen in vitro, die nur die elementaren Stoffwechselfvorgänge erhalten zeigen ohne jegliches Wachstum und relativ lange Zeit leben können (s. später unter „protektive Lösungen“). Die Potenzen bleiben also latent.

Schließlich ist noch hinzuweisen auf die Terminologie CHAMPYS, der von entdifferenziertem Wachstum in vitro spricht und darunter einen Prozeß der Rückbildung oder besser des Rückschlages in einen indifferenten embryonalen Zelltyp versteht, während differenziertes oder histiotypisches Wachstum dann vorhanden ist, wenn die spezifischen Merkmale in der Wachstumszone erhalten sind (s. Abschnitt D, h).

Es müssen auseinandergehalten werden „Mischkulturen“ und „Reinkulturen“. Die meisten Kulturen, die nach der sogenannten *physiologischen Elektivmethode* gezüchtet werden, sind Mischkulturen am Anfang, d. h.

bei der Explantation komplexer Gewebe, die aus spezifischem Parenchym und dem Blutgefäßbindegewebsapparat bestehen, wachsen zunächst ganz heterogene Elemente aus der Schnittfläche aus, Bindegewebszellen, Endothelien, Blutzellen und Parenchymelemente. Eine Ausnahme machen diejenigen Gewebe, die sich nach der *anatomischen Elektivmethode* züchten lassen, d. h. bei welchen sich die Gewebe rein mechanisch mit dem Messer isolieren lassen. Das sind jedoch nur wenige. Es gelingt gut bei Retina, Irisepithel und beim Gehirn früher Embryonen. Bei embryonalen Gehirnexplantaten lassen sich der Blutgefäßbindegewebsapparat und das Organparenchym sauber trennen und explantieren (s. S. 401). Das beweisen schließlich die zuerst gewöhnlich auftretenden primären, kernfreien Nervenbahnen in Gehirnkulturen, die tagelang bestehen können, ohne daß Zellen auswachsen. Wären Fibrozyten oder Endothelien in solchen Explantatmutterstücken, so würden sie sofort auswachsen. Das ist der Fall in Explantaten, die von erwachsenem Meerschweinchenhirn stammen. Hier treten von Anfang an zelluläre Prozesse auf, die verschiedenen Ursprungs sind. Es wäre also als wichtige allgemeine Regel zu beachten der Satz: Kulturen, die sich nach der anatomischen Elektivmethode nicht ansetzen lassen, sondern komplexe Gewebe darstellen, deren Bestandteile sich nicht mechanisch isolieren lassen, sind in den ersten Tagen oder Wochen der Explantation als Mischkulturen aufzufassen, auch wenn die ausgewachsenen Elemente ein anscheinend einheitliches Aussehen vortäuschen. Hierher gehören Milz, Lymphknoten, Lunge, Haut, Herz, Gefäße, alle Drüsen, um einige besonders typische Beispiele herauszugreifen. Aus Milzkulturen, die in den ersten Tagen hämatogene Rundzellen, dann Histiozyten und schließlich Fibrozyten auswachsen lassen, entstehen am Ende Fibrozytenreinkulturen. Aus Lungenkulturen, die, wenn sie vor der Explantation schlecht vom Blut gereinigt sind, massenhaft rote und weiße Blutzellen in die Wachstumszone zu Beginn ausschwermen, gehen schließlich epitheliale Membranen hervor, und ähnliches gilt für Aorta u. a. Die Kulturen reinigen sich erst im Laufe der Zeit nach mehreren Passagen, und es entstehen dann immer die zwei Grundtypen: Epithel und Fibrozyten, oder besser gesagt, membranförmiges und retikuläres Wachstum. Aus dieser empirischen Tatsache ergibt sich weiterhin, daß Untersuchungen nur an morphologisch wohldefinierten Objekten, d. h. an alten Kulturen vorgenommen werden sollten, um Irrtümer zu vermeiden, die durch die falsche Diagnose der anfangs gewachsenen Elemente leicht unterlaufen können. Man muß sich ganz sicher sein über die Art von Zellen, mit denen man operiert (A. FISCHER), und das ist nur an alten Kulturen möglich oder wenigstens besser möglich, wenn das Wachstum nicht von Anfang an ein so typisches differenziertes ist, daß ein Irrtum ausgeschlossen ist.

Nach dieser kurzen Erörterung einiger Grundbegriffe der Gewebezüchtung wollen wir nun die in der Kultur möglichen Wuchsformen in folgende 6 Gruppen einteilen:

1. Solide Formationen. Membranen, Inseln, Tubuli (Beispiel: Epithel).
2. Retikuläre Formationen (dreidimensionales Netzwerk). Beispiel: Bindegewebe, Muskelgewebe.
3. Isolierte Elemente, die keine Neigung zeigen zur Bildung fester Dauerverbände. Beispiel: Blutzellen, Exsudatzellen, Milz- und Kieselgurgranulomgewebe am Anfang der Züchtung, Knochenmark.
4. Das Nervenwachstum, welches in gewisser Hinsicht eine Besonderheit darstellt, denn es zeigt die größte Mannigfaltigkeit der Strukturen *in vitro*. Wir unterscheiden primäre, kernfreie Nervenbahnen, kernhaltige nervöse Gitter und neuroepitheliale Membranen.
5. Das Wachstum der bösartigen Geschwülste (Sarkom, Karzinom). Es stellt gewissermaßen eine Kombination von 1., 2. und 3. dar (s. später).
6. Das „organoide“ Wachstum oder auch das „kontrollierte“ Wachstum komplexer Gewebe, worunter wir alle Mutterstückstrukturen verstehen, Wachstum, welches ähnliche Formbeziehungen aufweist wie *in situ* (sogenannte „Ganzexplantate“, MAXIMOW).

Die in der Wachstumszone auftretenden Gewebsneubildungen sind gestaltlich gut durchforscht, alle Gewebe embryonalen Ursprungs oder solche vom erwachsenen Organismus der verschiedensten Wirbeltiere sind explantiert worden, und ihr wechselndes, morphologisches Verhalten *in vitro* ist Gegenstand eingehender Forschung gewesen. Es ist nicht die Aufgabe dieser Arbeit, eine statistische Darstellung aller erzielten Befunde zu geben. Wir verweisen auf die letzte Zusammenfassung von G. LEVI (1934) und beschränken uns hier lediglich auf die unter den erwähnten Punkten 1—6 angegebenen Wachstumsmodi der lebendigen Substanz unter Verzicht auf das Verhalten der einzelnen Organgewebe im Speziellen. Die hauptsächlich formbildenden Tendenzen der lebendigen Masse treten unter den soeben gekennzeichneten Typen auf. Das ist im Grunde genommen die einzige Gliederung, die *in vitro* bisher möglich ist. Während also *in situ* eine organspezifische Differenzierung vor sich geht derart, daß *eine* der Grundeigenschaften der lebendigen Substanz (Kontraktilität, Reizleitung, Sekretion) in so eklatanter Weise vorherrschend wird, daß sie alle anderen Eigenschaften überlagert oder verdeckt, können wir *in vitro* vorläufig nicht davon sprechen, von gewissen Sonderfällen abgesehen, und nehmen daher eine Einteilung nach anderen Gesichtspunkten vor.

Die Bezeichnungen *Epithel* und *Apothel* (RABL) (Abb. 4 und S. 363), denen histogenetische Vorstellungen zugrunde liegen, sind als übergeordnete Begriffe beibehalten worden, weil ihnen unterschiedliche Formbildungen auch *in vitro* entsprechen. — Die drei Grundformen *in vitro* sind also die *Membranen* einschließlich Tubuli (Epithel und ausnahmsweise Apothel, Mesothel), *Retikula* (Apothel) und *Kolonien isolierter Elemente*.

Die Kultur als Ganzes hat die Form einer flachen Scheibe oder besser einer Platte, deren Rand mehr oder weniger scharf abgesetzt ist und deren Dicke vom Zentrum nach der Peripherie zu abnimmt. An dieser Platte

können wir diejenige Seite, welche auf einer harten Unterlage liegt (Glas, Glimmer) als Bodenfläche oder als basale Seite bezeichnen im Gegensatz zur freien Seite. Diese Bezeichnung trifft aber nicht zu für die Fälle, wo das Explantat nicht auf eine Unterlage plaziert worden ist, sondern in das geronnene Medium mitten hinein. In diesem Falle wird es allseitig umgeben von einer Schicht festen Plasmas.

Die Flächengröße der Wachstumszone ist abhängig von der Zellzahl und der Wanderungsgeschwindigkeit der emigrierenden Elemente. Es kann vorkommen, daß sehr wenige emigrierte Zellen infolge hoher Wanderungsgeschwindigkeit eine relativ große Fläche einnehmen, und umgekehrt, daß viel Elemente sehr dichtgedrängt auf engem Raume liegen. Für die Größe der Wachstumszone sind ferner maßgebend folgende Faktoren: Die Natur des Nährbodens, die Lokalisation der Kultur in bezug auf den Nährboden (Oberfläche oder Inneres), das Alter des zur Explantation verwandten Fragmentes, der Ernährungszustand vor der Explantation, die morphologische Natur der explantierten Elemente und ihre gegenseitigen Beziehungen. — Die von EBELING eingeführte Messung der Wachstumszone durch Projektion und Flächenbestimmung erfaßt nicht mit die Dichte der Kultur. Trotz der dadurch bedingten Ungenauigkeit ist die Methode recht brauchbar, wenn man die Werte des Wachstums vergleicht mit Explantaten desselben Gewebes, das unter bekannten Bedingungen gezüchtet wurde. Die Fehlergröße sinkt dann auf 10%.

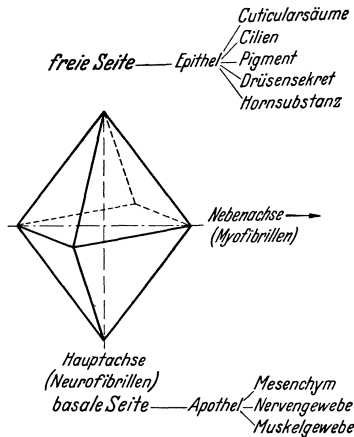


Abb. 4. Schema einer epithelialen Embryonalzelle nach C. RABL und H. HELD. Immanente Richtungsorganisation (freie und basale Seite; Haupt- und Nebenachse), verschieden gelagerte Potenzen.

Die Frage nach der Ursache des Wachstumsstillstandes einer Kultur soll hier nicht näher besprochen werden, weil sie noch nicht mit Sicherheit zu entscheiden ist. Nach CARREL und EBELING ist die Ernährungsstörung im Zentrum der Kultur hauptsächlich verantwortlich dafür, daß das Wachstum nach einer gewissen Zeit nachläßt und schließlich ganz aufhört. E. MAYER hat eine andere Auffassung in dieser Hinsicht: die Ursache des Wachstumsstillstandes liege in der Peripherie der Wachstumszone. Unserer Erfahrung nach ist augenblicklich in dieser wichtigen Frage noch keine Entscheidung zu fällen.

Die Frage nach der Ursache des Wachstumsstillstandes einer Kultur soll hier nicht näher besprochen werden, weil sie noch nicht mit Sicherheit zu entscheiden ist. Nach CARREL und EBELING ist die Ernährungsstörung im Zentrum der Kultur hauptsächlich verantwortlich dafür, daß das Wachstum nach einer gewissen Zeit nachläßt und schließlich ganz aufhört. E. MAYER hat eine andere Auffassung in dieser Hinsicht: die Ursache des Wachstumsstillstandes liege in der Peripherie der Wachstumszone. Unserer Erfahrung nach ist augenblicklich in dieser wichtigen Frage noch keine Entscheidung zu fällen.

Die Größe der Explantatzellen in der Wachstumszone ist bestimmt worden von POLICARD, DOGLIOTTI, BISCEGLIE, WERMEL, IGNATIEWA u. a. Es tritt gewöhnlich eine Verschiebung der Kern-Plasmarelation zugunsten des Zytoplasmas ein. Nach G. LEVI, beruht das auf einer Protoplasma-

quellung. Schon der morphologische Aspekt ergibt mitunter eine gewisse Volumenzunahme der Elemente. Nach WERMEL und IGNATIEWA beträgt die Größenzunahme 100—200%. Der Wegfall der Spannungen und das zugunsten der Gewebeflüssigkeit veränderte Verhältnis Zelle:Umgebung dürfte hier eine wesentliche Rolle mitspielen (s. S. 345).

Die zytoplasmatischen Bewegungen *in vitro* bezeichnen wir als amöboid. Nach HUZELLA trifft das jedoch nicht für die Fibroblasten zu. Die Phänomene sind vielfach nicht ganz einfach zu beurteilen. Es bleibt immer zu berücksichtigen, inwieweit eine „vis a tergo“ bei der Bildung der Wachstumszone mit in Frage kommt. Die Elemente sind in mitotischer Tätigkeit und schieben sich gegenseitig weg nach den Stellen des geringsten Widerstandes. G. LEVI weist darauf hin, daß von individueller Eigentätigkeit der „Zellen“ nicht viel in den Kulturen zu sehen sei. Denn im lebenden Präparat sieht man infolge der intimen Beziehungen keine Zellen als isolierte Individuen.

Auch CARREL gibt an, daß es sich *in vitro* nicht um eine Summierung elementarer Einzeltätigkeiten der Zellen handelt, sondern daß von Anfang an ein Ganzes — ein Gewebe in retikulärer oder membranöser Formation — auswächst, abgesehen natürlich von den lymphatischen Elementen. Aber auch hier scheinen recht intime Beziehungen zu bestehen, wie die Untersuchungen von A. FISCHER ergeben haben. Zu Beginn der Explantation eines Gewebefragmentes sieht man nicht isolierte Zellen auftreten, sondern nach der Umsetzung eines Mesenchymfragmentes z. B. findet sich um die Schnittfläche herum ein Kranz zunächst feiner, dann rasch dichter und dicker werdender Protoplasmaausläufer, in „grasartiger“ Anordnung, zunächst kernfrei, dann kernhaltig. Ein unvoreingenommener Blick auf eine solche Wachstumszone, die in Bildung begriffen ist, zeigt nichts von individueller Eigentätigkeit, wie schon von anderer Seite betont wurde. Die sogenannte „sternförmige Mesenchymzelle“ ist eine theoretische Abstraktion. Wir haben in der Wachstumszone Netze vor uns und kein Mosaik isolierter Elemente. Das gilt für die landläufige Mesenchymkultur. Kulturen in regressiver Phase zeigen aber sehr deutlich infolge Retraktion des Zytoplasmas und Segmentation isolierte Individuen, auf die der Zellbegriff paßt. Damit ist wieder die alte Regel bestätigt, daß progressives Wachstum und Differenzierung zu einer Überwindung der Grenzen der zellulären Organisation führt.

b) Die kleinste, *in vitro* züchtbare Einheit.

„Die letzte, lebensfähige Einheit ist die Zelle.“ Dieser Satz ist in allen anatomischen Lehrbüchern unter dem Kapitel „Zelle“ zu finden ohne Hinweis, daß er in der Formulierung nur Gültigkeit hat für die befruchtete Eizelle und gewisse Blastomeren ganz früher Stadien. — Eines der wichtigsten und auffälligsten Ergebnisse der Gewebezüchtung war die Tatsache, die hunderte Male bestätigt worden ist, daß aus *einer* normalen, embryonalen oder erwachsenen Körperzelle, die isoliert

und explantiert wird, kein fester Gewebsverband durch fortschreitende mitotische Tätigkeit zu erzielen ist. Eine isolierte Körperzelle teilt sich, nachdem sie künstlich isoliert worden ist, in vitro höchstens noch einmal, dann aber rundet sie sich ab und geht zugrunde. Es ist nötig, eine gewisse minimale Gewebsgröße zu erhalten bei der Explantation, wenn Wachstum einsetzen oder das Explantat überhaupt am Leben erhalten werden soll. Alle bisher in dieser Richtung unternommenen Versuche (P. ROUS, JONES, A. FISCHER, G. LEVI, OLIVO, CHAMBERS u. a.) sprechen dafür mit seltener Übereinstimmung, daß es für eine isolierte Zelle oder einige wenige Elemente nicht möglich ist, sich in vitro zu vermehren oder auch nur sich zu erhalten.

Die Zelle ist also nicht die letzte „lebensfähige Einheit“, wie der anatomische Lehrsatz lautet. Sondern ein Zellverband von gewisser Größe muß als Ausgangspunkt gegeben sein, wenn ein Explantat leben soll. — Der Begriff „Zelle“ ist aus der Anatomie toter und fixierter Präparate geprägt. Es ist vielfach darauf hingewiesen worden (BENNINGHOFF), daß rein anatomische Abstraktionen, losgelöst von funktionellen Erwägungen, zu falschen Vorstellungen oder wenigstens zu einseitigen Anschauungen führen müssen. Wenn man also den Begriff Zelle auch für die Anatomie lebender Objekte beibehält, dann müssen diesem Begriff die richtigen Attribute gegeben werden. Der Begriff „letzte lebensfähige Einheit“ trifft nicht zu für die Gewebezellen, selbst nicht für solche frühembryonaler Epochen. Aus isolierten „Zellen“ läßt sich kein Wachstum erzielen. Das beschreibt auch HARRISON (1938).

A. FISCHER gibt an, daß es ihm gelungen sei, aus einer isolierten Sarkomzelle durch Teilung sarkomatöse Gewebsverbände erhalten zu haben. Aber das ist nicht wieder bestätigt worden, und es scheint, daß FISCHER selbst diesem Befund keine größere allgemeine Bedeutung beimißt, denn er schreibt trotzdem 1930, daß es für eine isolierte Zelle nicht möglich ist, in Kulturen sich zu vermehren und längere Zeit fortzuleben. Man hat von einem „zytotropen Charakter“ der Explantatzellen gesprochen (ROUS, BURROWS, FISCHER). Auf die Art dieser Beziehung kommen wir noch zurück.

Die Experimente zum Nachweis der Lebensfähigkeit isolierter Zellen in vitro sind unternommen worden von HARRISON, P. ROUS, A. FISCHER, BURROWS, CHAMBERS u. a. mit verschiedenen Methoden. Keinem der genannten Forscher ist der Nachweis gelungen, so daß der mögliche Einwand einer durch die künstliche Isolierung bedingten mechanischen Schädigung ausfällt. Man hat Fibroblasten in flüssigen Medien gezüchtet, welche fein zerschnittene Wattepartikelchen enthielten. Ein oder zwei Fibroblasten benutzten je ein Wattefäserchen als solide Stütze, und auf diese Weise war es möglich, mit einer feinen Pipette solche Wattefäserchen zu aspirieren und zu explantieren. Bei Anwendung dieser Methode gelang es niemals, die derart explantierten Elemente zum Wachstum zu bringen. Sie lebten noch einige Zeit, rundeten sich ab und gingen

dann regelmäßig zugrunde. Dieser auffällige Befund ist von großer Tragweite. Er führt uns mit Notwendigkeit hin zu der Frage, ob es überhaupt *morphologisch* und *physiologisch unabhängige Individuen* in den Geweben gibt, wie es die Zellulartheorie bekanntlich behauptet. Damit wird das *Problem der interzellulären Beziehungen* aufgerollt, und es wird zu untersuchen sein, welche Ergebnisse die Züchtungsforschung zu diesen Fragen erbracht hat. Die Frage: Protoplasmakontinuität oder vollständige Diskontinuität und Unabhängigkeit der einzelnen Gewebezellen im Sinne des eingangs gegebenen Lehrsatzes ist zur Diskussion gestellt und beherrscht heute die biologische Problematik. Das Problem der morphologischen Zusammenhänge steht im Vordergrund und ist allerdings von physiologischer Seite hauptsächlich aufgeworfen worden, während in der anatomischen Literatur die klassische Formulierung meist ungeändert und uneingeschränkt beibehalten wird.

Ist eine Gewebekultur eine einfache Zellkolonie etwa analog einer Bakterienkolonie? — Nach der klassischen Bausteinthorie ist die sogenannte Zelle ein Element, ein zirkumskriptes Klümpchen Protoplasma mit Kern und Centrosom, ein Individuum, etwas Autonomes, in gewisser Hinsicht Selbständiges. Diese rein anatomische Definition stimmt zweifellos in vielen Fällen. Sie ist aber ungenügend und umfaßt nur einen Teil der sichtbaren Phänomene. Aus den Untersuchungen von HELD ergibt sich, daß die genannte Definition unhaltbar ist und das anatomische Kennzeichen des Begriffes Zellindividuum bei allen differenzierten „apothelialen“ Geweben (Nerven-, Muskel-, Bindegewebe) nicht zutrifft. Der Aufbau der lebendigen Substanz zeigt uns vielmehr mit großer Klarheit, daß die zunehmende Differenzierung der Gewebe zugleich eine *allmähliche Überwindung der Grenzen der zellulären Organisation mit sich bringt*, ein Vorgang, der zur Herausbildung eines allgemeinen, komplizierten Protoplasmakontinuums führt. (HELD: Neurenzytiumbegriff anstatt Zellbegriff.) Der kontinuierliche Charakter der lebendigen Substanz läßt sich *in vitro* mit großer Klarheit erkennen. Denn hier fallen die Nachteile des Schnittpräparates weg und lassen sich wie in einem natürlichen Häutchen die einzelnen Teile vollständig in ihrer Ausdehnung erfassen. Neben diesem morphologischen Beweis der Unhaltbarkeit des Zellbegriffes in seiner klassischen Formulierung als einem allgemeingültigen Organisationsprinzip der apothelialen Gewebe hat nun die Gewebezüchtung einen zweiten, nicht minder wichtigen Beweis erbracht. Der Begriff „Zelle“ — lebensfähige, letzte Einheit — mit allen genannten Kriterien (s. oben) stammt aus der Anatomie toter Objekte. Unter letzter, lebensfähiger Einheit versteht die Anatomie lebender Objekte etwas anderes, einen kleinen Gewebsverband von mindestens 50 bis 100 Kernen. *In vitro* ist es bisher noch nicht gelungen trotz vollendeter Technik, die letzte „lebensfähige Einheit“ der klassischen Anatomie am Leben zu erhalten. Daraus ergibt sich die Konsequenz, daß die sogenannte Zelle im Sinne der klassischen Definition eine Abstraktion ist, die, soll

sie auf lebende Objekte in vitro übertragen werden, in gewisser Hinsicht tiefergreifender Änderungen bedarf. Das Attribut „Individualität“ ist nicht angebracht, denn es hat sich ganz eindeutig erwiesen, daß die Lebens- und Wachstumsfähigkeit von Gewebezellen abhängig ist von gewissen *gegenseitigen Beziehungen*, deren genauere Analyse ein Problem äußerst verwickelter Natur ist. Es ist eine unhaltbare Meinung, wenn man sagt, daß die allgemeine Protoplasma-kontinuität mit dem Zellbegriff und der damit verbundenen Vorstellung der Individualität sehr wohl vereinbar sei. Eine solche Einstellung ist unexakt und wissenschaftlich undiskutabel. Der Zellbegriff gründet sich hauptsächlich auf die Vorstellungen der Individualität und Autonomie. Beides aber wird aufgehoben durch Protoplasma-kontinuität (s. auch BOEKE, ROBINOW 1937).

An dieser Tatsache der Unfähigkeit isolierter Zellen zum progressiven Wachstum in vitro ändert auch nichts die Beobachtung, daß weiße Blutzellen in vitro teilungsfähig sind

und unter Umständen ein fibrozytenähnliches Aussehen anzunehmen vermögen. Es handelt sich auch hier immer um massenhaft auswachsende Elemente. Daß aus einer einzigen isolierten, weißen Blutzelle durch fortschreitende Teilungen größere Verbände von solchen Elementen erzielt worden sind, hat noch niemand beobachtet. Außerdem haben die weißen Blutzellen normalerweise keine gewebbildenden Eigenschaften. — Wenn man mit einem feinen Messer ganz in der Peripherie einer Fibroblastenkultur liegende kleine, dünne Gewebestücke, die manchmal nicht mehr als 10 Kerne enthalten, exzidiert, so gelang es uns niemals, jene Gebilde zum Weiterwachsen zu bringen, nachdem sie in eine andere Flasche mit demselben Nährboden gesetzt worden waren. Exzidiert man jedoch ein etwas größeres Stückchen (s. Abb. 5 und 6), so wächst das Explantat gut weiter.

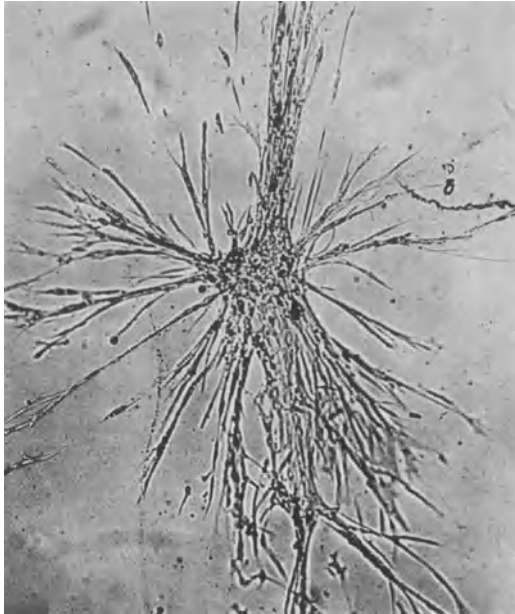


Abb. 5. Kleines, abgetrenntes Stückchen aus dem peripheren Teil der Wachstumszone einer 3 Monate alten Fibroblastenkultur (embryonales Hühnerherz). Zustand 24 Stunden nach der Operation. Diese Kultur stellt annähernd die „kleinste züchtbare Einheit“ dar.
Lebendphotographie.

Die Kerne zeigen rege mitotische Tätigkeit. POLICARD hat auf die vielfach zu bestätigende Tatsache hingewiesen, daß in Epithelkulturen sich öfters sehr kleine, nur wenige Kerne enthaltende solide Epithelzapfen von der Membran ablösen und dann regelmäßig zugrunde gehen. Die allgemeine Protoplasmakontinuität *in vitro* wird von fast allen Gewebezüchtern bestätigt, von wenigen Ausnahmen abgesehen (v. MIHALIK). C. ROBINOW

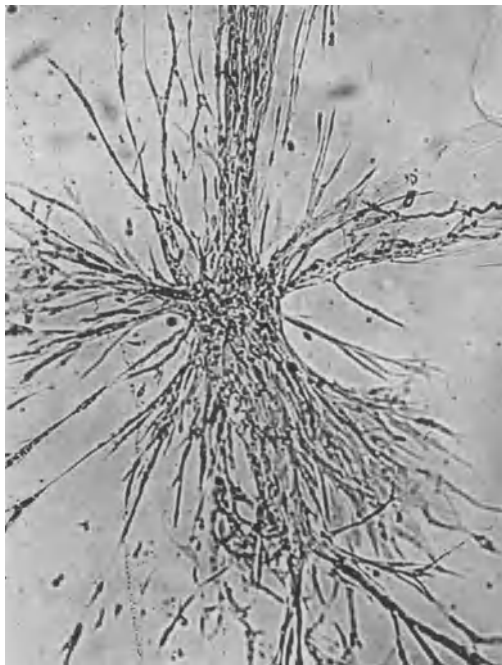


Abb. 6. Dieselbe Kultur wie in der vorangehenden Abb. 5. Zustand am darauffolgenden Tage. Geringe Massenzunahme, vorwiegend radiär gestellte, spindelige Elemente. Gezüchtet im üblichen „Fibroblastenmedium“ nach CARREL und EBELING. Lebendphotographie.

(1937) weist anlässlich seiner Untersuchungen über Epithelexplantate darauf hin, daß infolge der plasmatischen Verbindungen das Wort „Zelle“ nicht mehr angebracht sei. Es sollte, wenn angewandt, im Sinne von „Kernterritorium“ gebraucht werden. DE HAAN, HUZELLA, CHLOPIN, A. FISCHER, LASER, ERDMANN, v. MÖLLENDORFF u. v. a. haben Beweise dafür erbracht, daß nicht das sogenannte Zellindividuum der klassischen Bausteintheorie die letzte lebensfähige Einheit ist, sondern daß Wachstum und Gedeihen *in vitro* abhängig ist von gewissen interzellulären, protoplasmatischen Beziehungen.

Die physiologische Bedeutung der Anastomosen wird damit in ein besonderes Licht gerückt. In den nervösen Anastomosen findet nach HELD und BOEKE ein Neurofibrillenaustausch statt (s. Abb. 18, S. 403). Daß auf dem Wege über die Anastomosen und Netze Protoplasmaströmungen nach vielen Richtungen hin gehen, haben die Versuche am lebenden Objekt mit großer Deutlichkeit gezeigt (PÉTERFI, OLIVO, CHAMBERS, RENYI u. a.). Die Parallelexplantate von Herzmuskelfragmenten (FISCHER, OLIVO) ergaben, daß zwei Fragmente in demselben Medium in gewissem Abstände lokalisiert niemals im gleichen Takt pulsieren. Wachsen zwei solche Fragmente mit ihren Emigrationszonen zusammen, so beeinflussen sie sich gegenseitig, und es treten nach A. FISCHER Arrhythmien auf und fibrilläre Kontraktionen. Wenn man jedoch die Entfernung zwischen

den beiden Explantaten nur ganz gering macht, so daß sie schon nach kurzer Zeit zusammengewachsen sind, so ergibt sich nach A. FISCHER gemeinsame Pulsation. — Auf diese Weise konnten synchrone Pulsationen zweier von verschiedenen Herzen stammender Fragmente erzielt werden. Nach A. FISCHER ist der „zelluläre Kontakt“ zwischen den kontraktilen Elementen zweier pulsierender Herzfragmente die notwendige Vorbedingung für simultane Kontraktion. A. FISCHER ist allerdings in seiner Nomenklatur nicht immer sehr einheitlich vorgegangen. An anderer Stelle sagt er, der beschriebene Versuch sei der direkte Beweis dafür, daß der *zelluläre Kontakt* bzw. die *Anastomose* eine hervorragende Rolle für diese und jene Funktionen in der Gewebekultur spiele. Er meint in Wirklichkeit immer Protoplasmakontinuität. —

Man hat den Begriff „Desmone“ geprägt (A. FISCHER) und versteht darunter alle diejenigen Kräfte, die im Protoplasma die gegenseitige somatische und spezielle Funktion kontrollieren. Es besteht also ein zytoplasmatischer Austausch, eine Bewegung oder Zirkulation von einem Kern-Plasmakomplex zum anderen. Nach HELD ist das der wesentliche Prozeß bei der Nervenentwicklung, daß die Neurofibrillen mit ihrem Neuroplasma in verschiedenartige und andersartige Protoplasmen vermittels der Anastomosen hineinwachsen. Auf dieser histogenetischen Tatsache beruht der Neurenzytiumbegriff von HELD. Von physiologischer Seite wird mit dem Begriff der Desmone dasselbe ausgedrückt. Nach A. FISCHER sind die Desmone zu trennen von den Hormonen und Trephephen CARRELS. Die Desmone kommen nicht wie die letzteren in den Gewebespalten vor, sondern ihr Wesen ist es eben, daß sie sich streng an die intraprotoplasmatischen Bahnen halten, innerhalb der Anastomosen und Netze zirkulieren, ein allen Kern-Plasmakomplexen gemeinsames Agens darstellen. Bindegewebsdesmone können nach FISCHER nicht von Epithelien ausgenützt werden. Diese Desmone sind Faktoren nicht nutritiver Art, sie haben nach A. FISCHER vielmehr die Eigenschaften von Katalysatoren oder Akzeleratoren für die spezifischen Stoffwechselvorgänge.

Man kann also eine Gewebekultur nicht mit einer Bakterienkolonie vergleichen. Durch den Begriff der „Desmone“ wird neues Licht auf das Problem der Korrelationen geworfen und ein mit dem strengen Zellbegriff und der Bausteinthorie unvereinbares Prinzip gekennzeichnet. Die morphologisch nachgewiesene Existenz der Protoplasmakontinuität (HELD) hat eine physiologische Stütze, von ganz anderen Erfahrungen herrührend, erhalten. Die dem Begriff Zelle vindizierten Attribute „Individualität“, „Autonomie“ sind nur bedingt richtig. Sie gelten nur für die befruchtete Eizelle. Mit der fortschreitenden histogenetischen Differenzierung des Metazoenorganismus geht einher eine allmähliche Überwindung der Grenzen der zellulären Organisation. Die Tendenz zu allgemeiner Protoplasmakontinuität ist das hauptsächliche Prinzip der Histogenese. Die Tendenz zur Individuation — die gegenstrebige

Tendenz — ist, wie wir früher zeigen konnten (K. BAUER 1935), realisiert bei allen pathologischen Vorgängen (Entzündung, Geschwulstwachstum) und auch bei Störungen der normalen Histogenese infolge pathogener Einwirkungen. W. HIS stellte die wichtige Tatsache fest, daß abgestorbene menschliche Embryonen im Querschnittsbild massenhaft lymphozytäre Rundzellen aufweisen, und daß ein solcher Querschnitt Ähnlichkeit habe mit einem solchen durch einen Lymphknoten. Experimentell erzeugte Entwicklungsstörungen (K. BAUER) ergaben dasselbe bei Hühnerembryonen. Wir haben das Gesamtergebnis folgendermaßen formuliert: Zwei gegenstrebige Tendenzen kennzeichnen die ontogenetische Entwicklung, die Tendenz zu allgemeiner Protoplasmakontinuität, die zur Ausbildung eines Neurenzytiums im Sinne HELD-BOEKE führt. Diese Tendenz kommt am deutlichsten zum Ausdruck bei allen apothelialen Gewebeformationen. Zum anderen besteht eine gegenstrebige Tendenz zur Individuation, realisiert in der normalen Histogenese bei der Blutbildung vor allem. Diese gegenstrebige Tendenz kommt wieder zum Durchbruch bei den pathologischen Prozessen im erwachsenen Organismus. — Die Protoplasmakontinuität ist *in vitro* erwiesen. In allen gut gefärbten Präparaten von gut gewachsenen Kulturen sind die Zellen in Konnex miteinander durch protoplasmatische Zusammenhänge (A. FISCHER). In schlecht gewachsenen Gewebekulturen zeigt sich die Tendenz zum Isolieren und Abrunden, die dann schließlich zum Tode der Kultur führt.

**c) Die epithelialen Gewebe (vorwiegend solide Bildungen:
Membranen, Tubuli und Inseln).**

Die Massenbewegung des Epithels *in vitro* geschieht derart, daß die allgemeinen engen Lagebeziehungen der Elemente, so wie sie auch für die betreffenden Bildungen *in situ* charakteristisch sind, gewahrt bleiben und nicht einzelne Zellen auswachsen, sondern von Anfang an geschlossene Membranen (CARREL, BURROWS, EBELING, MATSUMOTO u. a.). Der freie Membranrand verläuft in einer annähernd konzentrischen Linie um das explantierte Mutterstück herum und schiebt sich im Laufe des Wachstums langsam vor (Abb. 7). Kleinere oder größere tubulöse Sprossen sind die Regel. Die Aneinanderlagerung der Elemente in den Tubuli ist mitunter besonders eng, so daß es unmöglich wird, einzelne Zellen zu unterscheiden. Die Elemente der Ekto- und Entodermkulturen oder deren Abkömmlinge sind flach oder auch kubisch, mitunter sehr groß. Sie flachen sich in ekto- und entodermalen Epithelkulturen gewöhnlich nicht so sehr ab wie in Endothelkulturen (POLICARD). Die Membranen können einschichtig oder mehrschichtig sein, häufig sind sie in den zentralen Partien mehrschichtig und werden nach der Peripherie zu einschichtig.

Die auffälligen, engen Lagebeziehungen der Elemente epithelialer Natur, die *in vitro* immer gewahrt werden, sind eine spezifische Eigen-

schaft der Epithelzellen. Sie kann aber durch äußere Eingriffe geändert werden (s. unten). W. H. LEWIS nimmt an, daß eine adhäsive Flüssigkeit existiert an der Oberfläche der Zelleiber, die den Zusammenhalt zustande bringt und die außerdem die Fähigkeit haben soll, Silbernitrat zu reduzieren, wie es für viele Bildungen gleicher Natur in situ bekannt ist (Alveolarepithelien).

Vielfach lassen sich sehr schön die Plasmodesmen erkennen, die die einzelnen Epithelien kontinuierlich miteinander verbinden. Allerdings ist gerade diese morphologische Besonderheit abhängig vom Grade der Wachstumsintensität der betreffenden Kulturen und kann in rasch wachsenden, sehr dichten Explantaten auch vermißt werden. Die Zellen liegen dann zu dicht aneinander, um die Plasmodesmen erkennen zu lassen. So wird oft eine Zellindividualität vorgetäuscht, wo sie in Wirklichkeit gar nicht besteht (s. ROBINOW). Bringt man intensiv wachsende Epithelkulturen in serumhaltige Nährböden, so ändert sich das. Der positive Befund in diesem Falle ist allein beweisend (ROBINOW), und das gelegentliche Fehlen der betreffenden Strukturen und Interzellularräume besagt nichts gegen ihre wirkliche Existenz. Es sei hier auf die bekannte Tatsache hingewiesen, daß viele Drüsen z. B. als solide Bildungen in der Entwicklung angelegt werden und erst später ein Lumen erhalten. Genau so verhält es sich mit den Interzellularräumen und -brücken, ihr Sichtbarwerden ist abhängig von der Dichte der Membran. Die Interzellularräume sind potentielle Räume (s. Abb. 8).

Eine Sonderstellung nimmt die so wichtige Polarität der Epithelien ein. Wir unterscheiden bekanntlich an jeder Epithelzelle eine freie und eine basale Seite, eine Hauptachse und eine Nebenachse (C. RABL, H. HELD). Die basale Seite ist bestimmt durch ihre Lagebeziehung zum Bindegewebe bzw. zur Basalmembran. Beide Seiten sind fernerhin gekennzeichnet durch die verschiedene Lagerung der immanenten Potenzen im Protoplasma (s. Abb. 4). Wir wissen seit RABL und HELD, daß die prospektiven Potenzen der Epithelien in frühen Stadien in der Zelle ganz verschieden gelagert sind: Zilien, Kutikularsäume, Pigment, Sekretionsprodukte kommen nur an den freien Seiten zur Ausbildung, die Myofibrillen dagegen und die Neurofibrillen orientieren sich an den basalen Seiten der epithelialen Bildungszellen in bestimmter Richtung, und zwar die Myofibrillen in der Richtung der Nebenachse, die Neurofibrillen in der Richtung der Hauptachse. Auch das sogenannte Mesenchym bildet sich an den basalen Seiten der Keimblattepithelien aus. RABL unterscheidet demnach „*Epithel*“ und „*Apothel*“. Die Epithelien bilden ihre spezifischen Produkte an der freien Seite, die Apothelien an der basalen. Nervengewebe, Muskel- und Bindegewebe sind zu den „apothelialen“ Formationen zu rechnen.

Die Apothelgewebe unterscheiden sich *in vitro* durch ganz tiefgreifende Wachstumsbesonderheiten von den echten Epithelgeweben. Sie haben

einen ganz anderen Wachstumstypus und zeigen ganz andersartige Formbildungstendenzen (s. Abschnitt D, d).

Zur Frage der Definition des Epithelbegriffes hat M. CLARA (1937) interessante Ausführungen gemacht, auf die hier kurz eingegangen werden muß. CLARA schreibt gelegentlich seiner vergleichend histobiologischen Untersuchungen an Nierenglomerulus und Lungenalveole, daß jede geschlossene Zelllage, die eine freie Oberfläche bekleidet, den Namen Epithel verdiene, gleichgültig ob sie ektodermaler, entodermaler oder mesodermaler Herkunft ist. Epithel ist also zunächst ein rein morphologischer Begriff nach CLARA. Als besondere Unterart unterscheidet CLARA die „Epizyten“, welche „Überbleibsel“ der Epithelien sind, aber nicht wie diese geschlossene Zelllagen bilden,

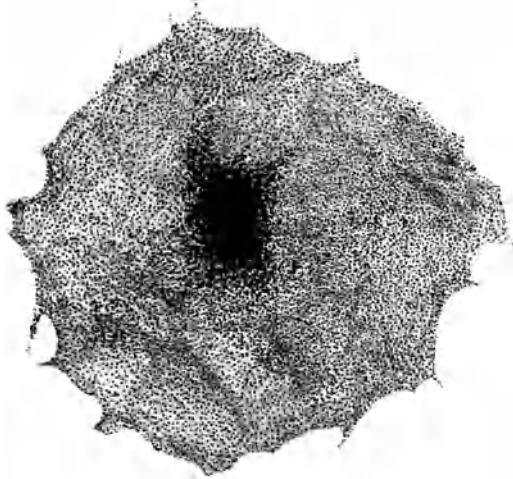


Abb. 7. Maximale Ausdehnung einer entodermalen Epithelkultur, auf der Oberfläche eines harten Nährbodens gezüchtet. Größter Durchmesser etwa 18 mm.

sondern mehr oder weniger selbständige, untereinander nicht zusammenhängende Zellen darstellen [Beispiel: Lungenalveole, Nierenglomerulus (s. S. 369)]. Das Endothel allerdings rechnet CLARA nicht mit zu den Epithelien, sondern er definiert es als eine einfache, eng geschlossene Lage mesenchymaler Zellen zwischen festem Mesenchym. Als wesentlichen Unterschied zwischen Epithel und Endothel sieht CLARA die Tatsache an, daß das Endothel von Blut bespült werde, also in Wirklichkeit gar keine freie Oberfläche habe wie das echte Epithel. — Wir

werden später noch auf die Schwierigkeiten hinzuweisen haben, die die Ergebnisse der Züchtungsforschung mit sich gebracht haben bei einer einwandfreien Beurteilung der genaueren Zellnatur *in vitro*. Zunächst glauben wir, festhalten zu müssen an der Tatsache der Polarität, die, ganz abgesehen davon, ob man eine histogenetische Betrachtung bei der Epitheldefinition zugrunde legen will oder nicht, als auffälligstes Kennzeichen Epithelien auszeichnet. Jede Epithelzelle hat eine basale und eine freie Seite. Das läßt sich weder vom Fibrozyten noch von seinen Abkömmlingen sagen. Verbunden damit sind die besonderen Achsenverhältnisse (s. Abb. 4). Als weiteres wichtiges Faktum erbringt die Gewebezüchtung eine allen Epithelien gemeinsame Wuchsform, solide membranöse Bildungen oder solide Inseln und Tubuli.

Diese immanente Polarität der Epithelien, die in so auffälliger Weise bei den differenzierten Strukturen zutage tritt, ist *in vitro* nicht aufgehoben. Für eine solche Annahme besteht zunächst kein Anlaß. Wächst eine Epithelmembran auf der Oberfläche eines harten Nährbodens oder direkt auf Glas bzw. Glimmer, so kann man ohne weiteres diejenige als die basale Seite bezeichnen, welche mit der Unterlage in Berührung steht.

Abb. 8 stellt einen Blick auf die basale Seite dar. Es fragt sich aber, ob damit auch schon die durch die verschiedenen gelagerten immanenten Potenzen gekennzeichnete Gegensätzlichkeit erkannt und gegeben ist.

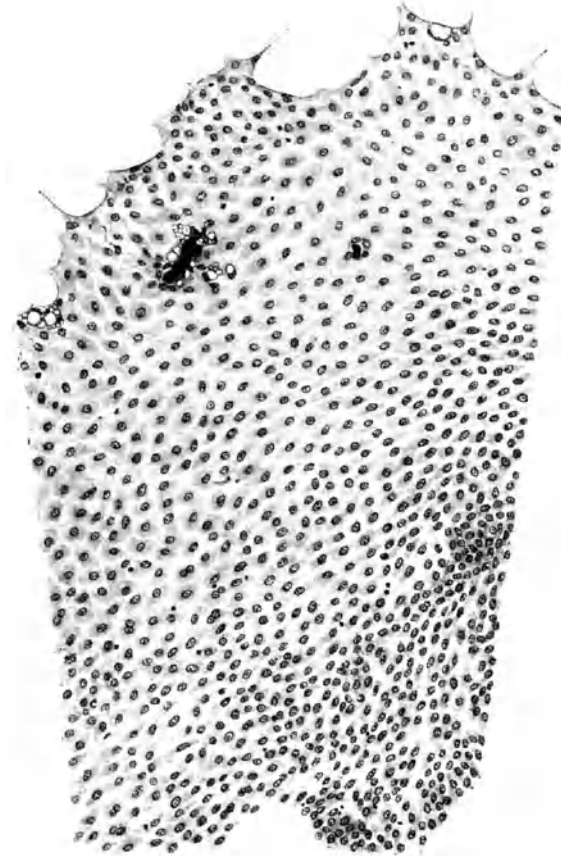


Abb. 8. Entodermale Epithelkultur im 4. Monat der Züchtung fixiert (10 Tage alter Hühnerembryo). Einfach gebauter Wachstumsrand. Flaschenkultur in wechselnden Medien gezüchtet, zuletzt in einem Medium mit relativ hohem Plasmagehalt 4 Tage lang gehalten, dann fixiert in Zenker. Gefärbt mit verdünntem Molybdänhämatoxylin progressiv. Gezeichnet von B. Neresheimer, München.

Das läßt sich natürlich nicht sagen, solange die spezifischen Produkte (s. oben) nicht gebildet werden. Polarität kommt weiterhin bei jeder Zelle zum Vorschein, und zwar beim Akt der Mitose. Wir möchten hier auf diese für die geordneten Wachstumsprozesse in situ so wichtige und bedeutende innere Richtungsorganisation der Epithelien hinweisen und feststellen, daß auch bei den in vitro wachsenden Epithelien ein Oben und Unten, eine gewisse Polarität wieder zutage tritt, gekennzeichnet in erster Linie durch die auffällige Tendenz, auf festen Unterlagen zu

wachsen, und in zweiter Linie durch die bei der indirekten Teilung auftretenden Phänomene.

Auffällig ist, daß in Epithelexplantaten zu Beginn des Wachstums oder auch später die Auswanderung von Elementen in geschlossenem Verbands der hauptsächlichste Vorgang zu sein scheint. Es wird vielfach darauf hingewiesen, daß trotz relativ großer Membranen mitunter nur wenig Mitosen zu finden seien. Diese Beobachtung ist oft gemacht worden, und das hat POLICARD bekanntlich veranlaßt, eine Vermehrung der Leberepithelien durch Amitose anzunehmen. Dasselbe gilt für A. THOMAS und seine Dotterentodermkulturen. In Neuroepithelkulturen konnte manchmal die Beobachtung gemacht werden, daß die große Ausdehnung der Epithelmembran in keinem Verhältnis stand zur Anzahl der zu findenden Mitosen (K. BAUER). Ich bin mir über diesen Punkt noch nicht ins Klare gekommen. G. LEVI, DOLJANSKY, v. MÖLLENDORFF lehnen Amitosen mit mehr oder weniger Entschiedenheit ab. v. MÖLLENDORFF beruft sich hierbei vor allem auf seine Filmaufnahmen. Der Befund des offensichtlichen Mißverhältnisses zwischen Ausdehnung der Epithelmembran und Mitosenzahl würde sich dann so erklären, daß in der sehr dichten Explantatmutterstückrandzone die meisten Mitosen liegen und die Elemente dank ihrer aktiven Wanderungsfähigkeit und weiterhin infolge einer „vis a tergo“ nach außen gelangen, wenn das Mitosenzentrum wirklich dort gelegen sein sollte. Das erscheint mir aber fraglich. Eine zweite zu berücksichtigende Tatsache ist, daß der Zeitpunkt der Fixierung der Kultur nicht ganz ohne Bedeutung ist für die Beurteilung dieser Dinge. Bei gewissen Epithelkulturen (Iris, Darm) finde ich immer reichlich Mitosen überall verstreut in der Wachstumszone. Im allgemeinen aber ist der Mitosekoeffizient in Epithelkulturen geringer als in Fibroblastenkulturen. Nach W. H. LEWIS ist Zellteilung in Entodermkulturen, die in Locke bouillondextrose gezüchtet werden, selten. In Leberkulturen beschreibt er vorwiegend Zellwanderung und weist auf G. LEVIS Befund hin über den Vorgang der indirekten Zellteilung bei Leberzellen. Nach A. FISCHER gibt es einen schnellwachsenden und einen langsam wachsenden Typ von Epithelkulturen. Der erstere wächst membranös, der zweite aber in „gewundenen Röhrchen“. Die Latenzzeit ist beim Epithel *in vitro* größer als bei den Bindegewebskulturen (UHLENHUTH). A. FISCHER beschreibt Mitosen und Amitosen. Er weist ferner hin auf die auffällige Tatsache, daß gewisse Proliferationszentren zu existieren scheinen in den Membranen, von denen „explosivartig“ Zellneubildungen ausgehen. Er beschreibt Zellen, die, noch bevor sie sich vollständig geteilt haben, schon wieder neue mitotische Figuren erkennen lassen. Auf diese Weise entstünden Riesenzellen, um welche sich normale Epithelzellen kreisförmig anordnen sollen.

Über Inselbildung oder Halbinselbildung aus soliden, in das Plasma gerinnsel eingebetteten Epithelkulturen berichtet ebenfalls A. FISCHER. Wir werden später (Nervengewebe) darauf noch zurückkommen und

lassen die Frage, ob solche Inseln sich abschnüren können und weiterhin lebensfähig bleiben, zunächst unberührt.

Eine besondere Beachtung verdienen die von A. THOMAS (1938) erhobenen Befunde. Der Autor gibt an, daß in seinen epithelialen Reinkulturen, die aus Dottersynzytium des Hühnchenembryos gewonnen werden konnten, die Zellen sich — allerdings ziemlich selten — durch Karyokinese vermehrten. Der hauptsächliche Vorgang sei der durch Amitose, und zwar beschreibt THOMAS eine besondere Form derselben, die er als „Meroamitose“ bezeichnet hat. Dieser Prozeß hänge offenbar zusammen mit dem Dottergehalt des Cytoplasmas. Schließlich trete wieder der gewöhnliche Modus der indirekten Teilung ein, wenn der Dotter resorbiert worden sei oder in Glyzeride verwandelt worden sei. Unter Meroamitose versteht THOMAS die Tatsache, daß ein kleiner Teil des Kernes einer großen Zelle sich direkt abschnürt. Zuerst ist er sehr chromatinarm. Die Teilung beginnt durch Bildung einer Art „seitlicher Hernie“ des Kernes. Der kleine, neue Kern wächst im Endoplasma. Nach Abschnürung eines entsprechenden Teiles vom Zytoplasmaleib ist die Tochterzelle fertig gebildet. Auf diese Weise würden eine ganze Reihe neuer Individuen geschaffen. THOMAS meint, daß im Falle der Histiozytenbildung dieser Prozeß eine große Rolle spiele.

G. LEVI weist darauf hin, daß die Eigenart der Epithelien darin besteht, einen besonderen Wachstumsmodus *in vitro* zu haben, der mehr als ihr zytologischer Charakter, welcher in vielen Fällen nichts Spezifisches an sich hat, in den Vordergrund tritt. Die Epithelien wachsen alle in Richtung des geringsten Widerstandes, bevorzugen Oberflächen und haben im allgemeinen keine Neigung, in das Innere des Nährbodens einzudringen. Diese allgemeinen Eigenschaften bleiben also erhalten. Die besonderen Spezifitätsmerkmale, die ihre Zugehörigkeit zu einem bestimmten differenzierten Organ kennzeichnen, gehen jedoch verloren. Über die *in vitro* nicht möglichen Formbildungen der Epithelien wird später berichtet werden (s. Abschnitt D, h). Es kann auch vorkommen, daß Mesenchym und Endothel *in vitro* membranförmige Bildungen zustande kommen lassen (s. Abschnitt D, d, α). Niemals aber sind beim Mesothel wenigstens die einzelnen Elemente so eng miteinander verbunden und zeigen eine so typische, mosaikartige Struktur mit der prägnanten polygonalen Felderung, wie das beim ektodermalen und entodermalen Epithel der Fall ist. Außerdem sind die endothelialen und mesothelialen Bildungen viel dünner und flacher als die epithelialen Membranen ektodermaler und entodermaler Herkunft. Ihr Rand ist weniger markant. Eine Besonderheit jedoch zeigen die Endothelkulturen: Das sind die soliden Kapillarsprossen, die wie bei der embryonalen Genese aus den Blutinseln so auch *in vitro* als solide, aus dicht gedrängten Elementen bestehende Tubuli oder Stränge auswachsen, ohne Lumen. Das ist besonders gut zu beobachten, wenn Granulationsgewebe oder Kieselgurgranulome explantiert werden (s. Abschnitt D, e, f und Abb. 35).

Epithelmembranen wachsen am besten auf Nährböden, die mehr als 50% Plasma enthalten. Bei Beachtung dieser Regel gelingt es im allgemeinen immer relativ leicht, auch in Leberkulturen echtes Epithelwachstum zu erzielen, das frei von fibrozytären oder endothelialen Elementen ist. Bei Nährbodenverflüssigungen treten gewöhnlich tiefgreifende Veränderungen auf, derart daß es zu gesteigerter Rundzellbildung kommt. Besonders die entodermalen Darmkulturen (TÖRÖ) verflüssigen bekanntlich den Nährboden sehr rasch, was früher ein großes Hindernis für Dauerzüchtung war, heute aber keine unüberwindliche Schwierigkeit mehr bedeutet.

Die Rundzellbildung aus Epithelkulturen ist ein besonders interessantes Phänomen. Nach CHLOPIN sterben die Rundzellen rasch ab. Nach A. THOMAS werden aus Dotterentodermmembranen mit der Zeit fibroblastenähnliche Elemente frei, die isoliert weitergezüchtet werden können. Später (1938) beschäftigt sich THOMAS ausführlicher mit diesem Problem und stellt fest, daß die epithelialen Dotterzellen in Makrophagen oder in Elemente von histiozytärem Typus sich zu verwandeln vermögen. Der Vorgang geht so vor sich, daß jede große Dotterzelle sich in Elemente zu verwandeln vermag von Makrophagen- oder Histiozytencharakter. Dabei spielt die sogenannte „Meroamitose“ eine Rolle (s. oben). Die Dotterzellen liefern Histiozyten, ohne in indirekte Teilung einzutreten. Die nicht transformierten Epithelzellen degenerieren nach THOMAS; die Kerne vermehren sich rapid in dem Zytoplasma, ohne daß Plasmateilung folgt. Diese rasche Vermehrung steht nach THOMAS wahrscheinlich in Beziehung zu einem gewissen Grade von Gewebsasphyxie. Nach PORTA ist mangelnde Sauerstoffzufuhr verantwortlich für Riesenzellbildung *in vitro*. In der Folgezeit zeigen die betreffenden Formationen immer mehr regressive Erscheinungen. In demselben Milieu jedoch, in welchem die nicht transformierten Epithelien zugrunde gehen, vermehren sich die in Histiozyten transformierten Formen abundant, und zwar durch Karyokinese. Wenn sie zu proliferieren beginnen, sind die histiozytären Elemente sehr oft inselförmig verteilt oder auch reihenartig und kranzartig angeordnet (THOMAS). Es ist auffällig, daß in Neuroepithelkulturen vielfach ähnliche Verhältnisse anzutreffen sind. Wir werden später darauf zurückzukommen haben. Die Tendenz zu Nährbodenverflüssigung ist in alten Neuroepithelkulturen immer vorhanden und erfordert dauernd technische Sondermaßnahmen. Auch in meinen Neuroepithelkulturen fand ich zahlreiche Rundzellbildung aus Epithelien (Abb. 25 und 26) und weiterhin war die auffällige Tatsache zu beachten, daß die Epithelien schließlich ganz verschwanden und zugrunde gingen, die Rundzellen jedoch weiter wucherten, aber nicht unbegrenzt lange Zeit. Über den Bildungsmodus dieser epithelialen Rundzellen in den Neuroepithelkulturen kann ich noch kein abschließendes Urteil fällen, insbesondere nicht, ob die Meroamitose im Sinne THOMAS' hier eine Rolle spielt. Diese Rundzellbildung fehlt nach meinen

bisherigen Erfahrungen in solchen Kulturen, die in der LINDBERGHschen Durchströmungsflasche angesetzt worden sind, oder sind dort wenigstens so spärlich, daß sie nicht ins Gewicht fallen.

Die Umwandlung von Epithelien in freie Rundzellen *in vitro* ist auch von anderen beobachtet worden (CHAMPY). G. LEVI, UHLENHUTH, A. FISCHER geben an, daß in weit höherem Maße als die Fibroblasten die Epithelien *in vitro* von äußeren Nährbodenbedingungen hinsichtlich ihrer Form und Anordnung abhängig sind. Nährbodenverflüssigung bringt immer Rundzellen zustande. Die Frage ist, ob hier eine regressive Form vorliegt oder eine Umwandlung in einen neuen Zelltypus. Die Befunde von A. THOMAS an den Dotterentodermkulturen sprechen für eine echte Transformation in einen neuen, lebensfähigen Zelltyp, und bei meinen Neuroepithelkulturen ist dasselbe der Fall. Das beweist die zähe Lebensfähigkeit der betreffenden Elemente in einem Medium, wo die Epithelien degenerieren. Sicherlich hat die Rückbildung der entstandenen Rundzellen keine allgemeine Bedeutung und tritt wahrscheinlich nur bei gewissen Geweben und äußeren Umständen ein.

JABLONSKI beschreibt in Iris- und Linsenkulturen 2 Wuchsformen: Die bekannte flächenbedeckende Epithelmembran und „lose Zellen“, die von „Fibrozyten“ nur schwer unterscheidbar sind. Dazwischen gibt es Übergänge. Bei dieser Gelegenheit sei auf den „Epizytenbegriff“ CLARAs hingewiesen. Das Epithel kann nach CLARA an der Oberfläche der Nierenglomeruli ausgesprochen sternförmig verzweigt erscheinen. Unter Epizyten versteht CLARA Epithelien, welche keinen geschlossenen Verband bilden, wie in der Lungenalveole und am Nierenglomerulus.

Nach A. FISCHER wachsen die einzelnen Epithelemente in einem plasmaarmen, weichen Medium längs der spärlichen Fibrinfäden und sollen infolge der weiten, mit Flüssigkeit gefüllten Zwischenräume zwischen den Fibrinfilamenten Spindelform annehmen. Auf einem harten Nährboden jedoch, der fibrinreicher ist, kann das Fibrinnetz so dicht sein, daß es eine einzige solide Phase darstellt und wie eine glatte, harte Glasfläche wirkt, auf der sich die neugebildeten Membranen ausdehnen. Wächst die Membran in einem dichten Plasmagerinnsel und nicht auf der Oberfläche, so wird sie gewöhnlich dichter, mehrschichtig, wächst langsamer und läßt die Plasmodemen nicht so gut erkennen.

Epithelgewebe sind gezüchtet worden aus Iris (CARREL und EBELING, UHLENHUTH, A. FISCHER, KAPEL, DOLJANSKY, POLEFF). KIRBY konnte Linsenepithel züchten, desgleichen ELEONSKAJA (s. A. FISCHER und ADACHI); das Verhalten der Retinaepithelien ist untersucht worden von LUNA, SMITH, BISCEGLIE, POLEFF, KAPEL, ADACHI. Nach DOLJANSKY bildet sich in langsamer wachsenden Irisepithelkulturen Pigment. Hornhautepithelien sind gezüchtet worden von KIRBY, POLEFF. Darmkulturen mit epitheliale Wachstum erzielten LEWIS und LEWIS, KAPEL, A. FISCHER, CHLOPKOW, BISCEGLIE, SZANTROCH, TÖRÖ, K. BAUER u. a.). Epidermisexplantate mit epitheliale Wachstum haben beschrieben

CARREL, BURROWS, GASSUL, KAPEL, BÖRNSTEIN, CHLOPIN, SZANTROCH, DREW, MAXIMOW, A. FISCHER, PINKUS, BLASZO. Letztere Forscher züchteten ektodermale Drüsen wie Milchdrüse (s. auch FRANCESCON, ZABELLI); entodermale Drüsen (Pankreas) wurden von CHLOPIN, PINKUS, AMOROSO, BARTA, KNAKE und KATZENSTEIN *in vitro* untersucht. Leber ist von EPHRUSSI, DOLJANSKY, POLICARD, LEWIS, STOCKING-LYNCH, AKAMATSU u. a. explantiert worden. Aus Gehirnexplantaten erzielten Epithelmembranen KAPEL, OLIVO, LAZARENKO, J. VERNE, K. BAUER. Lungenkulturen haben angelegt CAFFIER, CARELTON, BINET, CHAMPY, STRELIN, J. VERNE; sie wachsen in epithelialen Formationen oder Zapfenformen (CAFFIER); VERNE hat schöne Membranen beschrieben. Aus den verschiedensten Organen (Gallenblase, Speicheldrüsen, Niere) können, wie die Untersuchungen von RIENHOFF, CHAMPY, POLICARD, DREW, KNAKE und KATZENSTEIN gezeigt haben, epitheliale Bildungen *in vitro* entstehen, wobei vor allem die Beobachtungen von POLICARD, der aus Nierenfragmenten runde Epithelstränge und Tubuli gezüchtet hat, und die von RIENHOFF hervorzuheben sind. RIENHOFF gibt an, daß das nephrogene Gewebe in der Wachstumszone seine Entwicklung fortsetzt. Schildrüsen sind gezüchtet worden von CARREL, EBELING, DEMUTH, Nebennierenfragmente von SSIPOWSKY, Thymusgewebe von POLEFF, Hodengewebe von CHAMPY und ESAKI. CHAMPY und MORITA erhielten aus Hodenexplantaten reine Epithelkulturen. Ovarialgewebe wurde explantiert von CHAMPY, ZONDEK, WOLF, FANO und GAROFOLINI. Die spezifischen Keimzellen degenerieren schließlich, und es resultiert epitheliale Membranbildung in verschieden großem Ausmaße, oder es überwuchern letzten Endes die Fibrozyten über die Epithelien als Dauerformation. Aus Uterusschleimhaut hat VERNE (1935) epitheliale Membranen erhalten. HADIJOLOFF untersuchte das Epithel von Froschhaut *in vitro*.

Die organspezifischen Strukturen gehen also verloren *in vitro*; wo sie beschrieben wurden, handelt es sich um Mutterstückstrukturen. Es kann außerdem zu einer Verschiebung aller Explantatkomponenten kommen, derart daß die Mutterstückstrukturen auseinanderweichen (s. Nervenkulturen) und so Wachstum vorgetäuscht wird. Mit CHLOPIN läßt sich das epitheliale Wachstum *in vitro* einteilen in folgende Formen: 1. Membranen an der Oberfläche fester Substrate oder von Glimmer und Glasflächen; 2. Epithelschichten auf der Oberfläche der Mutterstücke. Hierher gehören die embryonalen Teil- oder Ganzexplantate von MAXIMOW u. a., die sich abrunden und mit Epithel verschiedenen Ursprungs bedecken; 3. isolierte, freigewordene Epithelzellen verschiedener Herkunft, die amöboid werden und ein Aussehen annehmen wie die Makrophagen und Histiozyten. Die Bildung dieser Elemente ist bis zu einem gewissen Grade abhängig von oder geht einher mit Nährbodenverflüssigung. Es fehlen in der CHLOPINSchen Einteilung zwei Dinge: Die tubulösen, strangförmigen Gebilde, wie sie besonders oft in Endothel-

kulturen zu sehen sind und die den embryonalen Kapillarsprossen ähnlich sind, und schließlich das Neuroepithel.

Eine besonders wichtige Frage muß noch kurz erörtert werden: Gibt uns das Wachstum in der Kultur sichere Anhaltspunkte für eine bestehende Wechselbeziehung zwischen Epithel und Bindegewebe? Hemmt das Epithelwachstum das des Bindegewebes oder umgekehrt? Besteht irgendeine Beziehung? — Wir wissen, daß sicher eine Beziehung bestehen muß bei der Fibrillogenese in situ. Die ersten kollagenen Fäserchen entwickeln sich bekanntlich an der Stelle, wo die langen, weitverzweigten mesodermalen Urwirbel epithelien ektodermale oder entodermale Gebilde berühren, wie Chorda, Medullarrohr, Ektoderm und Entoderm (HELD, K. BAUER). Die weitverzweigten Fortsätze werden glattrandig und nehmen die rote Farbe des Pikrofuchsins an, zeigen also einen Farbumschlag an diesen Stellen. Wahrscheinlich wirken die Epithelien durch Absonderung einer bestimmten Substanz, die die Zellfortsätze kollagen imprägniert. Die erste Faserbildung im Embryo tritt nach HELD im „epithelialen Bindegewebe“ auf, das eine kernfreie Bildung ist.

In vitro sind folgende Versuche unternommen worden, um die gegenseitigen Beziehungen zu studieren. A. FISCHER hat einen alten Fibroblastenstamm mit einer Epithelkultur zusammenexplantiert. Er beschreibt eine Durchwachsung, aber ohne daß die Spezifitätsmerkmale beider Zellformen verloren gegangen wären. Es gibt keine „Amalgamierung“ zwischen Epithel und Bindegewebe. Wir wissen, daß Bindegewebszellen die „Desmone“ der Epithelzellen und umgekehrt die Epithelien diejenigen der Bindegewebszellen *nicht* auszunützen verstehen, also getrennt bleiben. In gewissen Teilen der Kultur soll sich nach FISCHER drüsenähnliche Anordnung der Epithelien (Tubuli mit Lumen und Zylinderepithel!) gezeigt haben. An der Grenze Epithel-Bindegewebe habe sich eine Basalmembran gebildet. Sogar Sekret hat FISCHER in den Drüsenlumina beobachtet. Ich kann die FISCHERSCHEN Versuche in diesem Punkte nicht bestätigen. In meinen gelegentlich ausgeführten Experimenten der gleichen Art zeigt sich immer nur, daß Epithel und Bindegewebe mechanisch sich gegenseitig beeinflussen und verdrängen, wodurch in Schnittbildern der Eindruck einer echten Drüsendifferenzierung erweckt werden kann. Lumina mit Sekret konnte ich jedoch bisher nicht feststellen. Auch W. H. LEWIS gibt an (s. auch G. LEVI), daß in Kulturen die gegenseitige Beeinflussung von Epithel und Bindegewebe nur sehr gering ist, eine rein mechanische ist. Nach CHAMPY soll das Bindegewebe das Epithel in vitro hemmen. Eine weitere Untersuchung in dieser Richtung liegt von DREW vor, welcher Bindegewebe einer Nierenkultur, die unspezifisches, epitheliales Wachstum zeigte, zusetzte. DREW gibt an, daß sich Nierenkanälchen gebildet hätten. In einem weiteren Versuch beschreibt der Autor, durch Zusammenexplantation von Bindegewebe und Epithel der Epidermis Verhornungserscheinung am Epithel erzielt zu haben. Nach A. FISCHER ist das Bindegewebe

besser in der Lage, das Fibringerüst im Innern zu durchdringen, als das Epithel, welches langsamer wächst und dabei verflüssigt. Züchtet man beide zusammen, so tritt eine neue Komplikation räumlicher Natur dazu, die verschiedenen Gewebe wirken zunächst hauptsächlich mechanisch aufeinander, nicht chemisch (nach G. LEVI).

Es steht also mit Sicherheit fest, daß Epithel und Bindegewebe zusammenexplantiert ihre morphologischen Spezifitätsmerkmale nicht, wie CHAMPY annahm, aufgeben, sondern beibehalten. Bezüglich der Drüsenbildung wird zu untersuchen sein, ob nicht noch andere Faktoren geltend gemacht werden können für ihre Entstehung in situ. Das soll in Abschnitt D, h genauer besprochen werden. Daß Epithel und Bindegewebe jedoch neben der mechanischen gegenseitigen Beeinflussung auch noch chemisch in besonderer Weise aufeinanderwirken, scheint nach den Befunden in situ bei der histogenetischen Differenzierung sicher zu sein. FISCHER gibt an, in seinen Parallelexplantaten von Epithel und Bindegewebe Basalmembranen und kollagene Fasern beobachtet zu haben, die in Reinkulturen der betreffenden Gewebe nicht in der Anordnung zu finden sind. A. THOMAS beschreibt in seinen entodermalen Dotterepithelkulturen auch Faserbildung. Die Strukturen lassen sich mit Anilinblau färben, sind radiär gestellt oder auch konzentrisch in den zentralen Partien der Kultur angeordnet. Ihre Architektur ist analog derjenigen der mesenchymalen Stützfasern. Sie anastomosieren nicht, liegen zwischen, auf oder unter den Zellen und entstehen nach THOMAS in einer Grundsubstanz, deren genauere Natur schwierig zu bestimmen ist. Zugleich aber nehmen die Dotterzellen einen fibrozytären Typus an. „En tout cas, un observateur ne peut distinguer sûrement, sans examen spécial, une colonie de souche ancienne de cellules vitellines à type fibrocyte d'une culture de fibrocytes mésenchymateux“ (THOMAS). Außerdem aber beschreibt der Autor eine Faserart in epithelialen Dotterzellreinkulturen, die keine fibrozytenähnliche Gestalt angenommen haben. Sie gehen vom Rande aus und sind radiär nach innen zu gerichtet. Sie färben sich ebenfalls mit Anilinblau oder Azan. „Il est certain que l'épithélium vitellin est la cause de l'édification des fibres qui apparaissent hors des cellules, souvent dans une substance visible“ (THOMAS). Auch in fibrinfreien Medien hat THOMAS solche Strukturen beobachtet. In Kulturen, die in Serum oder nur in Embryonalextrakt gezüchtet worden waren, trete dieses Fasersystem vom 12. Tage ab auf. Es sei auch imprägnierbar mit Silber. Dieser Befund ist sehr interessant, denn er beweist, daß die betreffenden Strukturen keine Fibrinfasern, vom plasmahaltigen Medium herrührend, sein können.

Damit scheint ein entoblastischer Ursprung der Fasern nachgewiesen zu sein. Wir weisen hier nochmals auf die in diesem Zusammenhang wichtige Tatsache hin, daß auch in der embryonalen Entwicklung die ersten mit Azan oder Pikrofuchsin und Pikrotrypanblau färbbaren Fasersysteme in Form von Basalmembranen an der basalen Seite der

epithelialen Bildungen (Chorda, Medullarrohr, Ektoderm und Entoderm) zu beobachten sind zu einer Zeit, wo die Mesenchymentwicklung noch in den Anfängen steckt und epitheliales Bindegewebe zwischen den Keimblättern ausgespannt ist (HELD, K. BAUER). Die Frage, die die Forschung zu beantworten hat, wäre also die: Sind die in unseren Bindegewebsreinkulturen und Epithelreinkulturen beschriebenen Fasersysteme wirklich identisch mit den faserigen Strukturen in situ (kollagene, elastische Fasern, Basalmembranen), oder stellen sie nur ein unvollständiges Zellprodukt dar, welches erst durch die gemeinsame Tätigkeit, durch das Zusammenwirken von Epithel und Bindegewebe seine endgültige chemische und mechanische Vervollkommnung erhält, die ihre funktionelle Stellung im System des Ganzen dann bestimmt? — Diese Frage ist augenblicklich schwer zu beantworten. Wenn es richtig ist, daß entodermales Epithel Faserstrukturen zustande bringen kann, die sich von denjenigen mesenchymatischer Natur kaum unterscheiden lassen (THOMAS), so werden die betreffenden Prozesse sicherlich auch in situ eine Rolle spielen, und es ergäbe sich daraus die neue Aufgabe, zu untersuchen, welcher Anteil an den einzelnen Faserstrukturen in situ beiden, genetisch so verschiedenartigen Geweben zukommt. Die Untersuchungen von THOMAS stehen nicht vereinzelt da. G. LEVI, SACERDOTE haben Faserstrukturen in Irisepithelkulturen beschrieben (zit. nach THOMAS). Es scheint also, schließt THOMAS (1938), daß die Bildung solcher Strukturen nicht ein Privileg des Bindegewebes sein kann. Es handelt sich demnach um einen komplexen Vorgang, bei welchem verschiedene Faktoren zusammenwirken. Wir werden bei der Besprechung der bindegewebigen Strukturen noch darauf genauer zurückzukommen haben.

d) Die apothelialen Gewebe (vorwiegend retikuläre Formationen).

α) Das Bindegewebe und seine Abkömmlinge.

Das Bindegewebe embryonaler oder erwachsener Organismen wächst in vitro in Form dreidimensionaler, kontinuierlicher, mehr oder weniger dichter Netze (Abb. 9—14). Es ist hauptsächlich Gegenstand sehr zahlreicher Untersuchungen gewesen und läßt sich relativ einfach in vitro behandeln und erhalten. Es besitzt große Wachstumsenergie (grasartiges Wachstum) und kann leicht über lange Perioden gezüchtet werden. Es hat im Gegensatz zum Epithelgewebe, welches harte Nährbodenoberflächen bevorzugt und nur langsam inmitten eines plasmahaltigen Mediums sich ausbreitet, die Fähigkeit, sich überall im Medium rasch zu vermehren. Die Fibroblasten können ein dichtes Fibringerinnsel ebenso gut durchdringen wie ein weiches und weitmaschiges, ohne daß sie so starke fibrinverflüssigende Eigenschaften entfalten würden wie das Epithel. A. FISCHER gibt an, daß das die hauptsächlichsten Unterschiede zwischen beiden Gewebearten in vitro sind, die immer wieder klar zutage treten.

Bindegewebskulturen lassen sich aus verschiedenen Organgeweben erhalten. Die Fibrocyten haben die Neigung, die zu Anfang vom



Abb. 9. Peripherster Teilabschnitt aus einem alten Fibroblastenstamm (6 Monate). Aus dem Kopfmesenchym eines 9 Tage alten Hühnerembryos gezüchtet. Retikuläre, syncytiale Struktur. Flaschenkultur im üblichen Fibroblastenmedium nach CARREL und EBELING gezüchtet. Fixiert 5 Tage nach dem letzten Eingriff in Zenker, gefärbt mit Molybdänhämatoxylin (stark verdünnt) regressiv.

Explantatmutterstück mit auswachsenden Parenchymzellen und andersartigen Elemente hämatogener Natur bald zu überwuchern und dann eine sog. Reinkultur zustande zu bringen. Auf diesem Prinzip beruht die sog. „physiologische Elektivmethode“ zur Erzielung reinliniger Zellrassen. CARRELs klassischer Versuch, der unterdessen oft wiederholt

worden ist, geht darauf hinaus, aus den Herzen 5—7tägiger Hühnerembryonen, die in kleine Fragmente zerschnitten worden sind, Zellkulturen zu züchten, die anfangs noch kontraktile Eigenschaften aufweisen, dann aber ein reines Fibroblastenaussehen annehmen, ohne weiterhin Kontraktilität zu zeigen, und die jetzt über 27 Jahre alt geworden sind.

G. LEVI und seine Schüler nehmen Stellung gegen die „These“, wie sie sagen, daß bei Herzexplantation das Myokardium schließlich verschwinden solle und gewöhnliche Fibroblasten in retikulären Formationen als einzig mögliche Bildungen übrig bleiben. LEVI meint vielmehr, daß die Elemente der alten Herzkulturen wie die der jüngeren wirkliche Myoblasten sind. Eine solche Interpretation der Vorgänge bei der Herzfragmentexplantation würde in Widerspruch stehen zu den allgemein herrschenden Auffassungen. Hier kommen wir an einen sehr wesentlichen Punkt der ganzen Explantationsforschung.

Die Frage ist die: Überwuchern wirklich in Explantaten, die von differenzierten Organen stammen, die Fibroblasten von Anfang an und bringen dadurch einen allmählichen Regreß des differenzierten Organ Gewebes zustande, oder wachsen die spezifischen Organzellen (Beispiel: Herzmyoblasten) mit aus und entdifferenzieren sich zu einem einfacheren Zelltyp? Haben wir mit anderen Worten in der Wachstumszone Stromazellen mesenchymatischer Natur vor uns oder Parenchymzellen, die aus Arbeitszellen im Sinne PETERS zu Teilungszellen geworden sind?

Zunächst läßt sich die Streitfrage mit der bloßen mikroskopischen Beobachtung nicht absolut entscheiden. Es läßt sich vielmehr nur so viel mit Sicherheit sagen, daß das Aussehen der fraglichen Elemente in den alten Herzkulturen noch keinen bindenden Schluß hinsichtlich ihrer prospektiven Potenzen erlaubt und damit auch hinsichtlich ihrer Herkunft. Aber ein weiteres Faktum muß zur Diskussion gestellt und herangezogen werden: Die parallelen Vorgänge in situ bei der pathologischen Regeneration, Entzündung, Gewebeschädigung, Heilung nach Wundsetzung. Hier sehen wir tatsächlich die gemeinen Fibroblasten des lockeren Bindegewebes immer dann zu wuchern anfangen, wenn hochdifferenzierte Gewebe zugrunde gehen (A. BIER). Jedenfalls kann das differenzierte parenchymatöse Gewebe hinsichtlich der Wachstumsenergie nicht mit den Fibroblasten Schritt halten. Und sollte es in vitro wirklich anders sein? Sollten hier auf einmal die differenzierten oder in Differenzierung begriffenen Parenchymzellen mit gleicher Kraft zu wachsen anfangen wie die Stromaelemente und sich entdifferenzieren in einen fibroblastenähnlichen Typus? In der kausalen Geschwulstforschung ist bekanntlich die Vorstellung sehr verbreitet, daß pathologische Wucherungen von indifferenten oder rückdifferenzierten Elementen ausgehen sollen (RIBBERT, HUECK). Es sei aber darauf hingewiesen, daß C. RABL entschieden gegen die Auffassung sich gewandt hat, daß eine bereits in

irgendeiner Richtung spezialisierte Gewebezelle wieder in einen embryonalen Typus sich zurückverwandeln könne. So etwas sei in Wirklichkeit noch nicht beobachtet worden. Wir glauben also in dieser, für die gesamte Gewebezüchtung so wichtigen Frage zunächst mit CARREL an der Annahme festhalten zu müssen, daß das Prinzip der physiologischen Elektivmethode, nach welcher die Fibroblasten die anderen Elemente parenchymatöser oder hämatogener und endothelialer Natur zu überwuchern geneigt sind, zu Recht besteht. Das Aussehen der betreffenden Elemente läßt keine andere Deutung zu. Wenn die LEVISche These richtig wäre, dann ist nicht einzusehen, warum die indifferenten Herzmuskelzellen gerade ein so typisches *fibrozytäres* Aussehen annehmen in vitro. Bekanntlich gehört das Muskelgewebe zum Apothel und müßte die indifferente Form solcher Gewebszellen eine apotheliale sein. *Die Myoepithelzelle ist die Ursprungsform der eigentlichen Herzmuskelzellen* und nicht eine fibroblastenähnliche Zelle, wie wir sie tatsächlich in vitro bei Herzgewebsimplantation vorfinden.

Eine andere Frage ist es allerdings, ob es nicht doch einmal durch geeignete Zusammensetzung des Nährbodens und sonstige Verbesserungen unserer augenblicklichen Züchtungsmethoden gelingen wird, in frischen Herzimplantaten, die bekanntlich als Mischkulturen in dem Sinne aufzufassen sind, daß sie neben Fibroblasten auch einige Herzmuskelzellen (Fortdauer der Pulsation für einige Zeit) zu Anfang wenigstens immer mit enthalten, über längere Zeit Myoblastenwachstum mit spezifischer Differenzierung zu erzielen. Damit würde zugleich auch ein Beitrag zur kausalen Analyse der histogenetischen Differenzierung geliefert werden können. Vielleicht wird es einmal möglich, Mittel zu finden, die wie Organisatoren in dem Sinne wirken, daß sie Fibroblastenwachstum unterdrücken, spezifisch für Myoblasten sind, stimulierend nur auf diese wirken. — Unter einem solchen Gesichtspunkte betrachtet, bedeutet die LEVISche Auffassung die Grundlage einer fruchtbaren Arbeitshypothese. G. LEVI formuliert seinen Standpunkt folgendermaßen: Der wahre Ursprung des Stammes des Rockefeller-Institutes sei bis heute noch unsicher, und dasselbe gelte für sämtliche vom Herzen erhaltenen Kulturen unbegrenzten Wachstums. Man müsse nach LEVI auch sehr vorsichtig sein, *sämtliche Zellen der Wachstumszone ohne weiteres als Fibroblasten zu deuten*. Bei einer solchen allgemeinen Einstellung ist mir allerdings die Stellungnahme LEVIS gegenüber meinen in Mailand demonstrierten Nervenkulturen, die nach der anatomischen Elektivmethode sich züchten lassen, unverständlich¹ (s. später). Machen vielleicht nach LEVIS Auffassung die Gehirnkulturen eine Ausnahme von dieser Regel? (s. auch S. 401).

Es steht also zunächst fest, daß überall dort, wo es ein bindegewebiges Stroma oder besser einen Blutgefäßbindegewebsapparat gibt, die Fibro-

¹ Internationaler Anatomenkongreß, Mailand 1937. Diskussionsbemerkung G. LEVIS zum Vortrag S. 24 (Anat. Anz. Erg.-H. 83).

blasten die Neigung zeigen, das Bild in der Wachstumszone zu beherrschen bei Anwendung unserer bisher gebräuchlichen Medien und Züchtungsmethoden. Das heißt, die Regel gilt für fast alle Organe mit Ausnahme des Gehirns und Rückenmarkes, wo sich in embryonalen Stadien (5 bis 10tägige Hühnerembryonen) das spezifische Organparenchym und der Blutgefäßbindegewebsapparat gut scheiden lassen, ferner mit Ausnahme

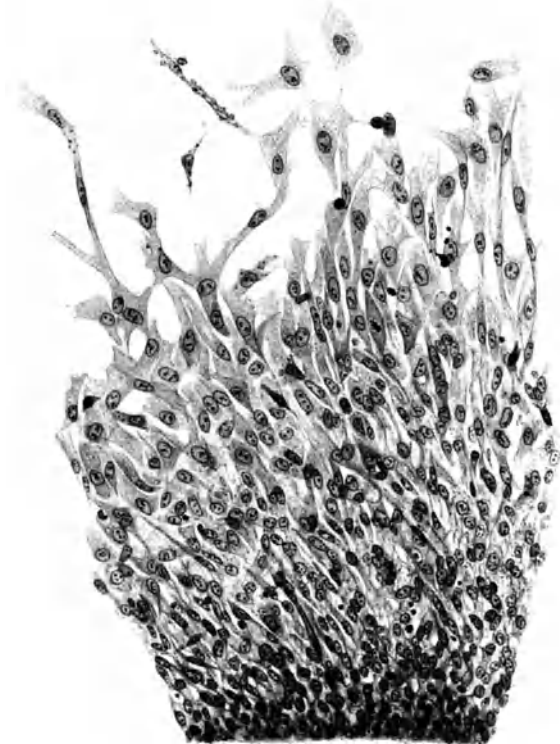


Abb. 10. Aus demselben Kopfmesenchym wie in Abb. 9 gezüchtete Kultur. Im Vergleich zu der Abb. 9 viel flacher ausgebreitete Elemente, mesothelähnliche Anordnung. Behandlung wie Kultur in Abb. 9. Gezeichnet von B. Neresheimer, München.

der Leber, der Retina, Iris (wenn man diejenigen Teile explantiert, die bei der Herausnahme spontan an der Linse haften bleiben), Pankreas, Schilddrüse, Lunge. In Explantaten der letzteren drei Organe finde ich nach Anwendung geeigneter Nährböden immer Überwiegen der Epithelien schon nach kurzer Zeit.

Die Formenmannigfaltigkeit der Explantatfibroblasten ist im allgemeinen nicht so groß, wie vielfach angegeben wird (Abb. 9, 10, 11, 12, 13, 14). Von den schmalen, spindeligen Elementen (Abb. 12) zu den mehr flachen Formen (Abb. 10) gibt es alle Übergänge. In den Anfangsstadien des Wachstums in vitro ist die Formenmannigfaltigkeit der Elemente weit

größer. Wir haben um jene Zeit folgende hauptsächlich Zellformen zu unterscheiden: Fibrozyten, Histozyten und Elemente des Blutgefäßapparates, eventuell Elemente des Organparenchyms. CHLOPIN unterscheidet in seinen Bindegewebskulturen, die von menschlichen Feten stammen, Desmozyten, Desmoblasten und Histozyten. Ich finde solche unterschiedliche Formen, wie gesagt, nur in den initialen Stadien der Explantation, nicht aber in alten Kulturen, wo sich eine wirkliche reinlinige Zellrasse von einem einheitlichen Zelltypus herausbildet und bleibt. Es herrscht dann entweder die schlanke spindelige Form vor, oder es gibt Kulturen mit mehr flachen Elementen, die breite, flügelartige Zellfortsätze aufweisen. Die Morphologie der einzelnen Zellrassen des Bindegewebes ist Gegenstand sehr eingehender Studien und heftiger Kontroversen gewesen (CARREL, EBELING, W. H. LEWIS, MAXIMOW, BLOOM, v. MÖLLENDORFF, A. FISCHER, DOLJANSKY, EPHRUSSI, HUZELLA, ASCHOFF, HUECK, MARCHAND, HERZOG, u. v. a.). Eine eingehendere Erörterung dieser für die gesamte Bindegewebsforschung so wichtigen Frage wird im nächsten Abschnitt gegeben werden. Eine Diskussion über diesen Gegenstand ist zur Zeit deshalb mit gewissen Schwierigkeiten verbunden und das Richtige vom Falschen deshalb so schwer zu unterscheiden, weil *in vitro*, abgesehen von der verschieden angewandten Methode, die Formenmannigfaltigkeit sehr beeinflußt wird und in hohem Grade abhängig ist von der Qualität des Nährbodens. Änderungen in der Form und im biologischen Verhalten der Elemente sind mitbedingt durch die physikalische und physikalisch-chemische Beschaffenheit des Nährbodens und überhaupt durch die Besonderheit des neuen Lebensraumes. Da aber der Nährboden aus gewissen Gründen *nicht* zu standardisieren ist (s. Abschnitt Nährboden, S. 462), weichen so vielfach die Untersuchungsergebnisse auseinander.

Wichtig ist, daß die Fibroblasten nicht als einzelne, isolierte Elemente auswachsen, sondern in Zusammenhang, als retikuläre Formationen (CARREL und EBELING) (Abb. 15). Nur in der Peripherie sieht man immer vereinzelte Elemente oder einige wenige in Zusammenhang (s. Abb. 9). Im allgemeinen aber ist das retikuläre Bindegewebswachstum *in vitro* gekennzeichnet durch die schwankende Weite der interzellulären Spalten. Die gegenseitigen Beziehungen der Fibroblasten sind wechselnd, insofern als die Interzellularräume kleiner oder größer sein können. Werden sie enger, so resultiert schließlich eine epithelartige Lagerung der Elemente. Das ist von W. H. LEWIS (Mesothelmembranen) wohl zuerst und seitdem öfters beobachtet worden. Die Umbildung von der multiformen, sternförmigen Bindegewebszelle zu einer einfach gebauten Mesothelzelle ohne Fortsätze läßt sich *in vitro* häufig feststellen (s. auch GROSSFELD, ERDMANN u. a.).

Nach W. H. LEWIS haben die Fibroblasten eine vorwiegend radiäre Stellung ihrer Hauptachse in der Wachstumszone (Abb. 12 und 15) und bilden eine von ihm als adhärentes Retikulum bezeichnete Gewebs-

formation. LEWIS nimmt ausdrücklich gegen die Anschauung vom synzytialen Charakter des mesenchymatösen Netzwerkes Stellung („Adhärentes Retikulum“). Es ist zuzugeben, daß an gewissen Stellen Adhäsionen, Berührung und einfache Überkreuzung bindegewebiger Elemente und Stränge vorkommen. Je nach der Dichte und Tiefenausdehnung der

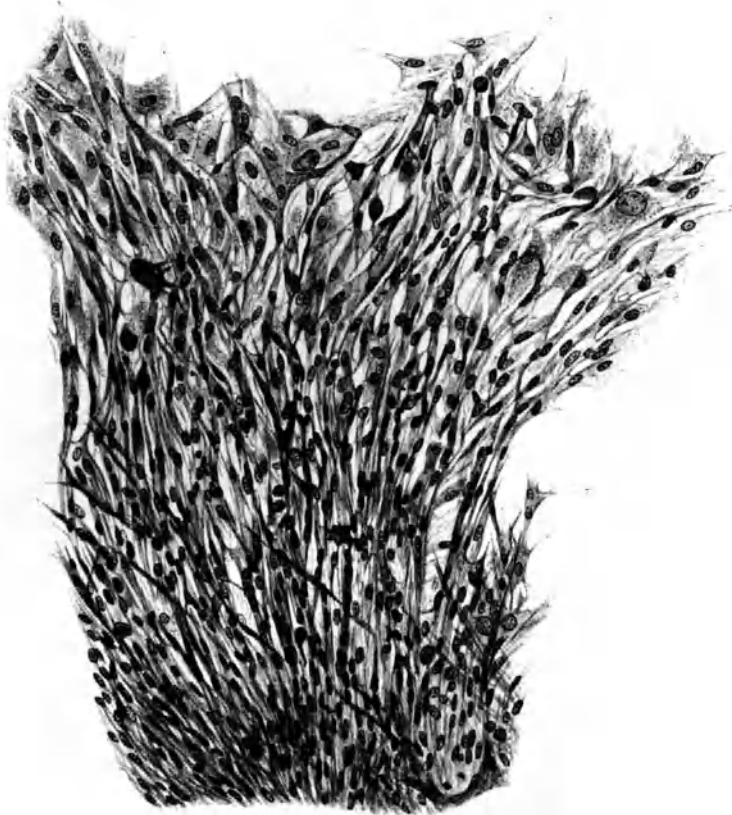


Abb. 11. Fibroblasten des erwachsenen Meerschweinchens. Kieselgurgranulomgewebe vom erwachsenen Meerschweinchen in vitro. Fester, fibrozytärer Gewebsverband der dritten Phase.
Aus K. BAUER: Z. mikrosk.-anat. Forsch. 40 (1936).

Kultur liegen hier Verschiedenheiten vor. Es lassen sich aber nach unseren Beobachtungen und denen anderer echte, kontinuierliche Verbindungen nicht leugnen, besonders in fixierten und mit Plasmafärbungen behandelten Kulturen läßt sich das einwandfrei sehen. Außerdem ist die synzytiale Verbindung zweifellos in Beziehung zu stellen mit höherer Differenzierung (s. Nervengewebe und Innervation). In unreifen, rasch wachsenden Kulturen, die reichlich Mitosen aufweisen, mag der individuelle Zellcharakter stärker zutage treten. Mit zunehmender histologischer

Differenzierung aber wird das Bild komplizierter. Das gilt besonders für die apothelialen Gewebsarten, Mesenchym, Muskelgewebe und Nervengewebe (s. weiter unten) (s. Abb. 15).

Nach W. H. LEWIS und M. R. LEWIS sind die Zellen des embryonalen Bindegewebes und diejenigen des erwachsenen Körpers verschieden und morphologisch auseinanderzuhalten (s. Abb. 10, 11, 12, 13 und 15). Diejenigen, welche von erwachsenen Organen, wie Lymphknoten, Milz, Thymus, Schilddrüse und Niere, abstammen und in vitro gezüchtet werden, wachsen nach LEWIS langsamer als die embryonalen, also die eigentlichen Mesenchymzellen; sie bilden ein loses Retikulum, haben schmale, spindelige Zelleiber mit relativ wenigen Zellausläufern (vgl. Abb. 9 und 12). Sie sollen ferner nicht die Plastizität besitzen wie die mesenchymalen Elemente. Diese letzteren beschreibt LEWIS als "the most common and often the most abundant type of cell encountered in the usual run of cultures of embryonic tissues". Sie variieren viel in der Form von der einfachen, spindeligen oder triangulären bis zu den viel verzweigten, multipolaren oder breiten, flachen Elementen. Die verschiedenen Faktoren, die diese Differenzen zustande bringen, sind noch nicht genauer bestimmt. Bei Explantaten von Hühnerembryonenherzen beschreibt LEWIS Umwandlung von solchen multiformen, weitverzweigten Elementen in epithelartige Mesothelmembranen. Die Fortsätze retrahieren sich, die Leiber bilden markante Ränder und berühren die benachbarten, eine mit Silbernitrat darstellbare Zementsubstanz bildet sich zwischen ihnen aus (LEWIS).

Nach CHLOPIN sind die spindeligen und die lamellenförmigen Zellen in den Bindegewebskulturen grundverschiedene Typen. Die ersteren nennt CHLOPIN „junge“ Elemente und die letzteren „irreversible differenzierte“ Fibroblasten. Die von LEVI zur Diskussion gestellte Frage, ob die Fibroblasten überhaupt als „differenzierte“ Gebilde anzusehen sind, führt in ein anderes Gebiet, auf welches wir noch zurückzukommen haben. Nach G. LEVI kann man die Fibroblasten nicht als differenzierte Gebilde betrachten, weil sie sich schrankenlos zu vermehren vermögen. Wir werden später noch darauf hinzuweisen haben, daß die Termini „Differenzierung und Entdifferenzierung“ für Vorgänge in vitro, soweit es die Fibrozyten betrifft, allgemein schwer anzuwenden sind. Die Begriffe „Teilungszellen“ und „Arbeitszellen“ sind zur Kennzeichnung der fraglichen Erscheinungen weit besser geeignet. Die wirklich undifferenzierte Zellform kann aber nur eine *epitheliale* sein. Denn das *Epithel ist das in phylogenetischer und ontogenetischer Hinsicht einfachste Gewebe*. Die Fibroblastenform stellt bereits in der ontogenetischen Reihe eine sekundäre Differenzierung dar, die aus einfachen Mesodermepithelien hervorgegangen ist. Die von CHLOPIN gegebene Einteilung der Zellformen und ihre Deutung erscheint uns weniger zutreffend als die von W. H. LEWIS. Die einzig mögliche Gliederung ist diejenige von W. H. LEWIS in die Bindegewebelemente erwachsener und embryonaler

Gewebe mit den erwähnten Formunterschieden und weiterhin die mesothelialen Zellformen.

Die von FAZZARI geäußerten Behauptungen, daß die Fibroblasten verschiedener Organe ein und desselben Embryos verschiedene Formen

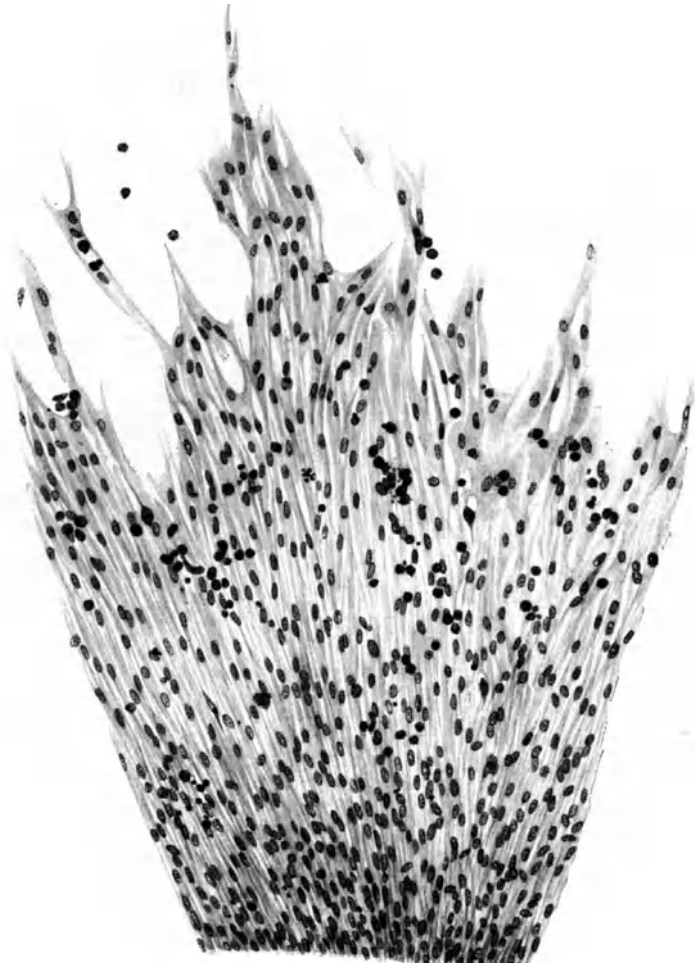


Abb. 12. Rasch wachsende, vorwiegend radiär angeordnete, schmale, lange, spindelige Fibroblasten mit vereinzelt Rundzellnestern. Explantat von 3 Wochen altem Kieselgurgranulomgewebe des Meer-schweinchens in der 2. Phase. Aus K. BAUER: Z. mikrosk.-anat. Forsch. 40 (1936).

in vitro zeigen, sind unbegründet (s. auch G. LEVI). Die Kultur gibt nach meinen Erfahrungen keine sicheren Anhaltspunkte dafür, ob es organspezifische Fibroblasten gibt. In älteren Passagen, und nur solche können herangezogen werden, verwischen sich jedenfalls anfangs

mitunter bestehende Unterschiede. Etwas anderes ist es dagegen, ob die von PARKER behaupteten biologischen Unterschiede der einzelnen Organfibroblasten zu Recht bestehen. Nach den Untersuchungen dieses Autors scheint es, als ob Knochen, Knorpel, Myokard und Skelettmuskel-fibroblasten unterschiedliche Residualenergie im gleichen Medium zu entfalten vermögen. Die in seiner Textabbildung 1 (1933) angegebene graphische Darstellung läßt erkennen, daß die Vermehrung der Skelettmuskelfibroblasten, Brustmuskel-, Schilddrüsenfibroblasten diejenige der

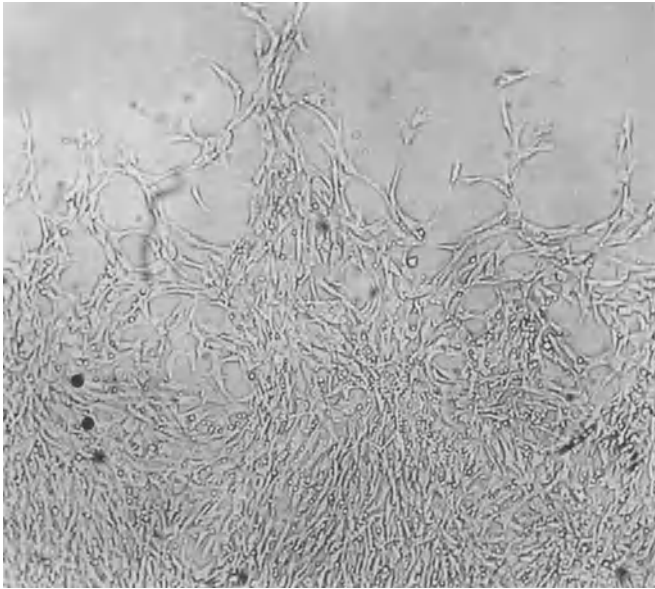


Abb. 13. Lebendphotographie einer alten Fibroblastenkultur (Rockefeller-Institut, New York).
Raschwachsende Kultur. Embryonales Hühnergewebe.

Eierstock-, Aorta-, Herz-, Metanephrosfibroblasten beträchtlich übertrifft. Eine Mittelstellung nehmen ein diejenigen Fibroblasten, die aus Lunge, Knochen, Knorpel, Milz und Magenmuskulatur isoliert worden waren. Es handelt sich dabei um Gewebe eines 16tägigen Hühnerembryos, die in einer Mischung von Plasma und Embryonalextrakt (Huhn) gezüchtet worden waren. Bei der Beurteilung dieser Ergebnisse PARKERs ist aber in Erwägung zu ziehen, ob hier wirklich immanente Grundeigenschaften des kernhaltigen Protoplasmas vorliegen, die zu diesen auffälligen Wachstumsunterschieden führen, oder ob nicht vielmehr das sehr unterschiedlich konstruierte Ausgangsmaterial, d. h. die *quantitativen* Unterschiede und das Verhältnis von Fibroblasten zu Interzellularsubstanz und parenchymatösen Zellen, die im explantierten Fragment vorhanden sind, eine Erklärung für dieses verschiedenartige

Verhalten geben könnte. Denn es ist ohne weiteres klar, daß die Zahl der im Mutterstück überhaupt vorhandenen Bindegewebszellen und ihre jeweilige Maskierung durch Interzellulärsubstanz oder durch die verschiedenen Parenchyme eine Rolle zu spielen hat und in Erwägung zu ziehen ist, wenn man das Wachstum verschiedener Gewebe durch planimetrische Messung erfassen und auswerten will. Das hat aber PARKER merkwürdigerweise gar nicht berücksichtigt. Ebenso wie die unterschiedliche Vermehrungsfähigkeit sind natürlich dann auch die anderen

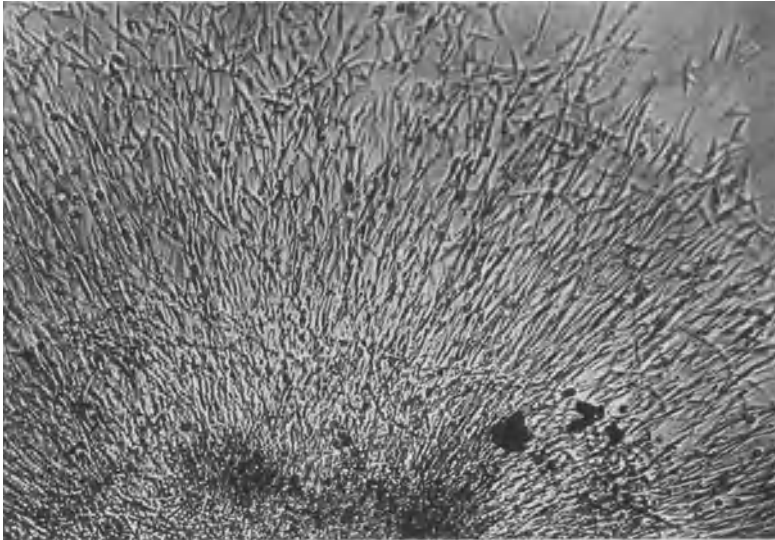


Abb. 14. Lebendphotographie einer langsam wachsenden Fibroblastenkultur (Rockefeller-Institut, New York). Alter Stamm. Embryonales Hühnergewebe. Schmale, spindelige, radiär zum Mutterstück gestellte Formen.

von PARKER angegebenen Differenzen hinsichtlich Aziditätsgrad und Fähigkeit der Fibrinverdauung zu beurteilen und abhängig von den quantitativen Verhältnissen im Mutterstück und in der Wachstumszone.

Nach OLIVO verschwinden die Differenzen, die in den ersten Tagen der Explantation bei Sehnen, Knochen vom Femur, Schädeldach, Herz, Haut und Aorta zu beobachten sind, im Laufe der Zeit, sobald echte Reinkulturen sich gebildet haben. Nach G. LEVI wird durch diese Untersuchungen und seine eigenen Ergebnisse „die Glaubwürdigkeit der PARKERSchen Befunde noch weniger bestätigt“. Die Versuche von OLIVO und PORTA sprechen dagegen.

BLOOM (1937) weist darauf hin, daß mit Ausnahme des Nervengewebes praktisch jedes andere Körpergewebe in der Kultur Zellen auswachsen lasse, die wie Fibroblasten oder Fibrozyten des lockeren Bindegewebes aussehen. BLOOM stellt die Frage: Was ist eigentlich ein Fibroblast? — Das ist nach seiner Meinung eine fundamentale Frage der Gewebezüchtung. Sind die sogenannten Fibroblasten morphologisch veränderte Zellen eines anderen Typus

oder wirklich echte Bindegewebszellen, herrührend vom Stroma des explantierten Fragmentes?

Die Frage: Was ist ein Fibroblast oder Fibrozyt? gilt aber auch für die Verhältnisse im ganzen Körper, wenn man an die jüngsten Untersuchungen über diesen Gegenstand von H. SCHREIBER und SCHREIBER und RIESS (1938)¹ denkt. Diese Autoren kommen, nachdem bereits die sehr gründlichen und ausführlichen Untersuchungen von

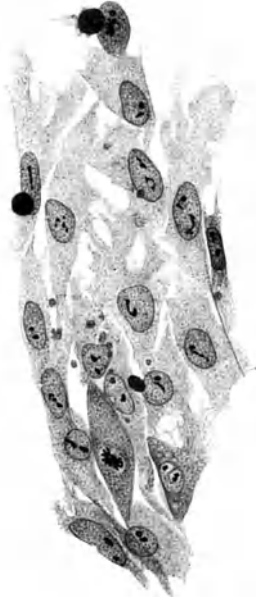


Abb. 15. Aus einem 6 Monate alten Fibroblastenstamm (embryonales Kopfmesenchym). Deutlich ausgeprägtes Synzytium. Tendenz zum Isolieren und Abrunden der Fibroblasten beim Akt der indirekten Teilung. Fixierung Zenker, Färbung mit verdünntem Molybdänhämatoxylin, regressiv. Gezeichnet von B. Neresheimer, München.

v. MÖLLENDORFF, HUECK, RANKE, JASSWOIN, SNESSAREW u. a. vorliegen, wieder zu ganz anderen Resultaten: Der Fibrozyt sei eine isolierte Zellform, es gäbe keine Synzytien, Histiozyten und Fibrozyten haben keinerlei genetische Beziehungen, die spindelige und die polymorphe Zellform sei bereits von frühembryonalen Stadien an festgelegt. Wir verweisen hier auf unsere oben bereits erwähnten Befunde, daß die sogenannte sternförmige Mesenchymzelle eine theoretische Abstraktion ist. In Wirklichkeit gibt es nur Netze.

Es herrscht das Bemühen, den Zellcharakter weniger nach dem morphologischen Aspekt zu bestimmen als nach den tatsächlichen Potenzen. Was nun zunächst die Frage der Faserbildung betrifft, so gibt BLOOM an, daß die Fähigkeit dazu auch andere retikuläre Elemente, glatte Muskelzellen, perivaskuläre (adventitielle) Zellen, Osteoblasten und Chondroblasten, besitzen. Sogar epitheliale Elemente nehmen an der Faserbildung teil (K. BAUER, A. THOMAS). Dieses Kriterium ist nach BLOOM, der die Frage sehr gewissenhaft diskutiert hat, ungenügend, um Fibroblasten von anderen Elementen *in vitro* zu unterscheiden. Die weitere Fähigkeit der Fibroblasten, Makrophagen zu bilden, wäre ein anderes Kriterium für die betreffende Zellart und ebenso die Eigenschaft dieser Makrophagen, sich wieder in fibroblastenähnliche Formen zurückzuverwandeln. Nach BLOOM sollte man nur dann von Fibroblasten *in vitro* sprechen, wenn die fraglichen Elemente keine anderen Funktionen zeigen als die nicht kultivierten Zellen des betreffenden Bindegewebes. "The above discussion on what is a fibroblast shows

clearly the necessity for including the concept of developmental potencies in the attempt to estimate the degree of differentiation of a cell" (BLOOM).

Diese kurze Erörterung der Lage zeigt die ganz unerwartet aufgetretenen Schwierigkeiten bei der genaueren Bestimmung der Zellnatur, die sich unter Umständen ergeben können, wenn man Strukturen in einem neuen Milieu außerhalb des Körpers in einer neuen Lage untersucht. Die rein morphologischen Kriterien, die dem Histologen bei der Diagnose der Elemente *in situ* zur Verfügung stehen, können *in vitro* nur mit gewisser Reserve herangezogen werden, und die Potenzen der fraglichen Strukturen lassen sich vielfach noch nicht im wünschenswerten Ausmaße und mit der nötigen Klarheit zur Entfaltung bringen. Die Alternative: Fibroblast oder entdifferenzierte Parenchymzelle, ist besonders von G. LEVI gestellt und einer eingehenden

¹ SCHREIBER u. RIESS: Z. mikrosk.-anat. Forsch. 44, 325 ff. (1938).

theoretischen Untersuchung unterzogen worden. Wie wiederholen hier das, was bereits oben gesagt wurde, daß, nach den Vorgängen der Histogenese zu urteilen, nicht der Fibrozyt die noch undifferenzierte Ausgangsform der verschiedenen Parenchyme darstellt, sondern die Epithelzelle die histogenetisch einfachste und ursprüngliche Zellform, der histologische Ausgangspunkt aller Gewebe letzten Endes ist. Die typische Sternzelle des Mesenchyms finden wir nur im Gebiet des epithelialen Bindegewebes von HELD, des Mesostromas, auftreten, sie stellt bereits eine sekundäre Erscheinung, eine differenzierte Form dar. Deshalb erscheint uns die LEVISche Auffassung (s. oben), die in der Frage gipfelt: Fibrozyt oder in fibroblastenähnliche Form verwandelte entdifferenzierte Parenchymzelle? histogenetisch wenig begründet. Wir kennen jedenfalls aus der normalen Histologie keine analoge Erscheinung.

Die Natur der Interzellulärsubstanzen in vitro ist vielfach Gegenstand von Untersuchungen gewesen. Wir haben in vitro zunächst immer eine Art künstlicher Interzellulärsubstanz vor uns, nämlich das Medium, und dieser Umstand muß berücksichtigt werden. Die Frage, die bei allen solchen Untersuchungen daher immer zugleich mit in Erwägung zu ziehen ist und Berücksichtigung erfordert, ist die: Inwieweit ist bei der Bildung der beobachteten faserigen Strukturen in vitro das Medium durch Umwandlung seiner Komponenten, hauptsächlich des Fibrins, beteiligt und inwieweit die lebendige, kernhaltige, protoplasmatische Substanz? Läßt sich der Einfluß des plasmahaltigen Mediums immer mit Sicherheit ausschließen? Vollzieht sich die Faserbildung im Sinne von NAGEOTTE oder im Sinne von HUECK? Von solchen Gesichtspunkten aus hat jede Untersuchung über diesen Gegenstand auszugehen, und es wird zu prüfen sein, inwieweit man diesen Erwägungen bei der Beurteilung der erhaltenen Befunde Rechnung getragen hat (MAXIMOW, BLOOM, MCKINNEY, LAMBERT, LITVAC u. a.).

Die Ausbildung faseriger Interzellulärsubstanzen im explantierten Bindegewebe ist nachgewiesen worden von BAITSELL, MAXIMOW, BLOOM, G. LEVI, OLIVO, MCKINNEY, A. FISCHER, HUZELLA, MOMIGLIANO LEVI, zuletzt von LEVI-MONTALCINI und SACERDOTE, BOFILL-DELOFEU, DOLJANSKY und ROULET, CHLOPIN, K. BAUER u. a. BAITSELL nimmt als Ursprungsort der Fasern an die im Nährboden enthaltenen Fibrinstrukturen. Daß im Nährboden faserige Strukturen mit Leichtigkeit nachzuweisen sind, die weit ab von Zellen liegen und sich mit den gewöhnlichen Methoden darstellen lassen, ist nicht zu bezweifeln und läßt sich relativ oft beobachten. Darüber kann gar keine Meinungsverschiedenheit bestehen. Die Frage ist eben nur die: Sind das Bildungen, die den echten kollagenen oder elastischen Strukturen in situ an die Seite gestellt werden können?

Nach den Untersuchungen von v. MÖLLENDORFF bilden sich die kollagenen und elastischen Fasern des Mutterstückes (aus Schleierstücken gezogen!) nach einiger Zeit in Explantaten des subkutanen Bindegewebes erwachsener Kaninchen. Allerdings wurde dabei das Mutterstück in toto umgesetzt und nicht, wie üblich, geteilt. Ferner beschreibt v. MÖLLENDORFF im Zentrum des Mutterstückes Zellzerfall

und die bekannten Verkalkungserscheinungen. Die Herkunft der Fasern in der Kultur sei sehr leicht zu bestimmen. „Es handelt sich um das Plasmamedium selbst, das unmittelbar in die faserige Substanz umgewandelt wird“ (v. MÖLLENDORFF).

OLIVO hat den Nachweis erbracht, daß auch der alte Fibroblastenstamm CARRELS nicht die Fähigkeit verloren hat, Fasern zu bilden (s. auch CARREL selbst in einer früheren Mitteilung). OLIVO hat dann Faserbildung in flüssigen Medien beobachtet, die also nicht von Fibrinstrukturen herrühren konnten. Nach MAXIMOW und BLOOM entstehen die Fasern weit weg von den zellulären Bestandteilen der Kultur und sind das Produkt eines Niederschlages (Verwandlung eines Sols in ein Gel) ohne direkte Beteiligung der Zellen. MAXIMOW nimmt gegen die Umwandlung von Fibrin in kollagene Fasern Stellung (HUZELLA ebenfalls). Das fragliche Problem ist weiterhin erforscht worden und zwar von BOFILL-DELOFEU, MOMIGLIANO, LEWIS, PORTA, ERDMANN u. a.

Nach DOLJANSKY und ROULET (1934) kann auf Grund der Ergebnisse der Gewebezüchtung als gesichert angenommen werden, daß die mesenchymalen Fibrillen extraplasmatisch sich entwickeln. „Der fibrillenbildende Vorgang ist immer ein Ergebnis einer direkten Fühlungnahme zwischen der Zelle und dem umgebenden Medium“ (DOLJANSKY und ROULET 1934). Ich bin in früheren Untersuchungen (BAUER 1934) zu dem Ergebnis gekommen, daß mit den Begriffen „intrazelluläre“ und „extrazelluläre“ Genese der fragliche Prozeß sich nicht klar kennzeichnen läßt. Der Hauptwert ist hier weniger auf die Topographie der fertigen Strukturen, deren Genese erforscht werden soll, zu legen, sondern auf den Ausgangspunkt der Prozesse, die zu ihrer Bildung führen, und dieser liegt zweifellos in den Zellen. In ihnen spielt sich der Anfang eines Prozesses ab, der in den Interzellularräumen beendet wird. Diese Räume sind gewissermaßen das Arbeitsfeld, in welches die Zellen ihre Produkte absetzen und welches . . . dauernd unter ihrem organisatorischen Einfluß steht“ (K. BAUER 1934).

Nach DOLJANSKY wirkt sich bei der Entstehung der Fibrille die Spannung *nicht* als ursächliche Kraft aus, ihre Rolle ist mit der Orientierung der fibrillären Strukturen erschöpft.

Nach S. MOMIGLIANO LEVI (1932) läßt sich nicht Präkollagen von Kollagen unterscheiden und bildet sich Kollagen frühzeitig in Form eines netzigen Stromas, welches dann unter mechanischen Einflüssen in bündelförmiges Stroma verwandelt wird.

Zusammenfassend lassen sich folgende Ergebnisse und Deutungen aufstellen: 1. Die Fasern sind ein Produkt der Umwandlung des fibrinhaltigen Nährbodens. Für eine solche Auffassung sind eingetreten zuerst BAITSELL. Seine Theorie der Natur der interzellulären Strukturen steht derjenigen von NAGEOTTE sehr nahe. Ferner gehören hierher HARRISON, der die Befunde BAITSELLs bestätigt; auch OLIVO (zit. nach LEVI) hat die Umbildung aus Fibrin bestätigt, ferner v. MÖLLENDORFF.

2. Bildung kollagener Faserstrukturen extrazytär, aber nicht aus Fibrin. Auch das hat OLIVO gesehen (1931). Er züchtete Herzexplantate in Embryonalextrakt ohne Plasma in Flaschen und will Bündel kollagener Fasern in den Interstitien gesehen haben. Nach HUZELLA sollen die Fibrinfäden des Mediums durch ein Sekret der Zellen umgewandelt werden, womit eine doppelte Komponente bei der Fibrillogene annehmen wäre. Viele Autoren, die Faserstrukturen beschrieben haben, äußern sich nicht genauer über ihren Bildungsmodus (MCKINNEY, KNAKE, HUZELLA, MOMIGLIANO LEVI).

3. Intrazelluläre Genese ist von LUDWIG behauptet worden. Dazu äußert v. MÖLLENDORFF, daß es sich bei diesem Befund wahrscheinlich um Tonofibrillen handelt.

Offenbar gibt es keinen einheitlichen Entstehungsmodus von Fasern *in vitro*. Es bilden sich sehr wahrscheinlich qualitativ so verschiedenwertige Produkte in den Explantaten der einzelnen Autoren, daß damit die herrschenden Meinungsverschiedenheiten und vor allem die heterogenen, in den Abbildungen dargestellten Befunde der Autoren zu erklären wären. Eine direkte Beteiligung von Zellen läßt sich wohl nicht leugnen, wie die Befunde von W. H. LEWIS und M. R. LEWIS gezeigt haben, die im Ektoplasma von Mesenchymelementen Fibrillen gesehen haben (s. a. CHLOPIN.) Die bisherigen Resultate sind nicht übereinstimmend und wenig einheitlich. Da man im allgemeinen überall dieselbe Methode der Züchtung im gleichen Medium angewandt hat, ist offenbar die mehr oder weniger erfolgreiche Handhabung der histologischen Färbetechnik mit verantwortlich zu machen für gegensätzliche Ergebnisse.

Nach unseren Erfahrungen ist keine Frage ungeeigneter, durch die Methode der Explantation *in vitro* eine endgültige Klärung zu erfahren als die Fibrillogene im Bindegewebe, welches in plasmahaltigem Nährboden gezüchtet wird. Denn wir haben hier eine künstliche Interzellularsubstanz vor uns, enthalte sie nun Fibrin oder andere Eiweißkörper (Embryonalextrakt), die von sich aus alle möglichen fädigen Strukturen zu bilden imstande ist, welche sich mit den gewöhnlichen Faserfärbemethoden darstellen lassen (Pikrofuchsin, Anilinblau, Silbernitrat). Ich möchte die Befunde OLIVOS besonders hervorheben und auch bestätigen, daß sich faserige Strukturen sowohl in fibrinhaltigen wie in fibrinfreien, eiweißhaltigen Nährböden vorfinden (s. auch HERINGA). Dieser Sachverhalt führt zunächst dazu, die *in vitro* entstehenden Faserbildungen als etwas Besonderes den organisierten Interzellularstrukturen *in situ* gegenüber- und nicht an die Seite zu stellen. Wir weisen bei dieser uns notwendig erscheinenden Schlußfolgerung auf die Äußerung MARCHANDS hin, daß sich beim Prozeß der Wundheilung ebenfalls faserige Bildungen zu Beginn nachweisen lassen, die sich aus dem Fibrin herleiten und mit den üblichen Fasermethoden darstellbar sind. MARCHAND unterscheidet aber streng zwischen diesen Fibrinfasern und echten

kollagenen Fasern, die etwas grundsätzlich Verschiedenes sind. Diesen Standpunkt MARCHANDs teilen wir vollkommen, auch hinsichtlich der Befunde in vitro, d. h. der vorläufigen. Die zweifellos zu bestätigenden Befunde von BAITSELL, v. MÖLLENDORFF, OLIVO einerseits und die von OLIVO und MOMIGLIANO andererseits beweisen wohl, daß es viele Möglichkeiten gibt, Fasern in Bindegewebskulturen zu erzielen und mit unseren Verfahren färberisch darzustellen, aber nicht, daß sie mit den Körperstrukturen identische Gebilde sind.

Sehr vorsichtig bei der Beurteilung der verschiedenartigen, in vitro beschriebenen Faserarten äußert sich auch W. H. LEVIS, der die Möglichkeiten, wie Faserbildung in vitro *vorgetäuscht* werden könne, diskutiert (s. S. 395).

Wir haben bereits früher darauf hingewiesen, daß offenbar zwei Komponenten bei der Faserentstehung im Bindegewebe in situ mitwirken, eine epitheliale und eine mesenchymatische, und daß die Beobachtungen von THOMAS über Faserentstehung in Dotterentodermkulturen diese Auffassung, die hauptsächlich auf HELD zurückgeht, zu bestätigen scheinen. Bei fortwährenden Vergleichen der Fibrillogenese in embryonalen Stadien (Urwirbelstadium) mit Strukturen in Mesenchymkulturen fiel zweierlei auf: daß die Fibrillogenese in situ ganz unzweifelhaft *beginnt* an den Berührungsflächen von Mesenchym mit ektodermalen und entodermalen Bildungen, und zweitens, daß in vitro der Ort der stärksten Faserbildung vielfach dort gelegen ist, wo keine oder nur wenige Zellen gelegen sind. In diesem Punkte hat MAXIMOW recht. Es ist nach meinen Beobachtungen in den Kulturen durchaus nicht so, daß innerhalb der dichten Zellager in den zentralen Partien die Interzellularräume immer ausgefüllt wären mit Materie von fibrillärer Beschaffenheit. Auch die ersten Fasern in situ entstehen in einem kernfreien Gewebe, dem epithelialen Bindegewebe von HELD. Die Mesenchymfortsätze nehmen oft eine sehr lange und schmale Gestalt an, verlieren ihre protoplasmatischen Varikositäten und werden glatt, sie zweigen sich ferner peripherwärts auf und nehmen einen anderen Farbton an bei Anwendung von Doppelfärbungen, und zwar dort, wo sie Epithel berühren. Sie zeigen einen Farbumschlag und färben sich mit Pikrofuchsin rot. Diese Partien der Mesenchymzelle emanzipieren sich dann beim Akt der indirekten Teilung, retrahieren ihr Protoplasma und streifen so die Fasern ab. So viel ist also mit Sicherheit festzustellen, daß die vielfach als Beweis der extrazellulären Genese angeführte Distopie der Fasern mit Hinsicht auf die Zelleiber, die Tatsache, daß sie gar keine Lagebeziehungen mehr zu den Mesenchymelementen zu haben scheinen, kein Beweis ist zugunsten der extrazellulären Genese. Solche faserartige Bildungen, die mit den Zellen in kontinuierlicher Verbindung stehen und unschwer als Zellfortsatz zu diagnostizieren sind, sind auch von LEWIS, G. LEVI und MARCHAND gesehen worden, aber nur von letzterem Forscher als Faserbildungen erkannt und hingestellt worden. Ich habe auch in vitro solche

Bildungen gesehen und beschrieben. Allerdings ist die überaus minutiöse Färbeprozedur in der Kultur nicht mit dem gleichen Erfolg anzuwenden wie in situ wegen der Farbmaskierung durch das Medium. G. LEVI stellt in seinen Abb. 77 und 78 (1934) ähnliche mesenchymale Strukturen dar, äußert sich aber nicht über die Natur der schmalen, faserartigen Zellfortsätze der Mesenchymzellen.

Die Bildung elastischer Fasern in vitro ist von BLOOM und PORTA (1929) sowie von ODIETTE beobachtet worden. PORTA hat in Hautkulturen von 7tägigen Hühnerembryonen, die selbst noch keine elastischen Fasern im Mutterstück enthielten, die Bildung der betreffenden Strukturen in der Wachstumszone gesehen und beschrieben. Sie färben sich mit Resorzin-Fuchsin und sollen am 6. Tage der Explantation auftreten. Ferner hat ODIETTE ähnliches beobachtet, welcher die Bildungszellen nach einer alten und sehr guten Nomenklatur als „Elastoblasten“ bezeichnet hat. Die Fasern entstehen nach Angaben dieses Forschers intrazellulär im Ektoplasma. ODIETTE verwandte Aorten und Hautexplantate.

Zusammenfassend wäre also zu sagen, daß der Begriff Bindegewebsfaser in der Kultur kein einheitlicher sein kann und in vitro verschiedenartige und heterogene Dinge darunter zu verstehen sind. Neben die wohldefinierten kollagenen, elastischen Fasern und die Gitterfasern (MCKINNEY, HUZELLA) treten andere faserige oder faserartige Strukturen, die als Fällungsprodukte fibrin- und eiweißhaltiger Flüssigkeiten angesehen werden müssen, fädige Ausscheidungsprodukte der Zellen im lebenden oder im regressiven Zustande, die wir von den echten Bindegewebsfasern zu unterscheiden haben und die sich unter dem Einfluß der Zellbewegungen (Spannungen) faserähnlich orientiert haben. Ein Überblick über die Literatur und die demonstrierten Abbildungen besonders beweist am besten die heterogene Natur der beschriebenen Befunde und zwingt zu besonderer Skepsis in der Beurteilung. Gehen wir also auf die eingangs formulierte Fragestellung zurück, so wäre zu sagen, daß die Scheidung zwischen Zellprodukt und Produkt des Mediums in vitro nicht mit Sicherheit durchzuführen ist und daß die Zellen durch ihre meistens radiäre Stellung zum Explantatmutterstück das fibrinhaltige Medium unter bestimmten Zug setzen und so eine bestimmte Anordnung der künstlichen interzellulären Substanz in vitro zustande bringen, daß ferner unter dem Einfluß gewisser Zellausscheidungen, ob allgemeiner oder spezifischer Art bleibt dahingestellt, diese künstliche Interzellulärsubstanz gewisse Veränderungen durchmacht; daß die färbetische Identität eine wirkliche Gleichartigkeit der zu beobachtenden Faserstrukturen mit denen in situ zuläßt, ist vorläufig zu bezweifeln. Nach NAGEOTTE ist das Körpergewebe imstande, totes Material sich als Interzellulärsubstanz einzuverleiben, das dann schließlich wie kollagene Substanz funktioniert, und sind überhaupt alle faserigen Interzellulärsubstanzen tot. Stellt man sich auf den Boden dieser Theorie, so würde

die Vorstellung, daß das eiweißhaltige Medium der Kultur und das Fibringerüst das Material zur Fibrillogenese liefere, wie es tatsächlich in vielen Kulturbefunden augenscheinlich ist, keine Schwierigkeiten machen. Nach einer anderen und ebenfalls gut begründeten Anschauung jedoch sind die faserigen Interzellulärsbstanzen lebendig (HEIDENHAIN, HUECK, RANKE). Eine solche Auffassung ist aber unvereinbar mit der Annahme: Die unter dem protoplasmatischen Einfluß der lebendigen Substanz umgewandelten Mediumprodukte, die ganz heterogener Natur sind, werden zu echten Fasern und sind den kollagenen und elastischen Bildungen *in situ* an die Seite zu stellen. —

Die Knorpel- und Knochenexplantate haben ergeben, daß reifer Knorpel, ohne Perichondrium explantiert, nur sehr schwer zum Wachsen zu bringen ist. Bekannt sind die Versuche POLICARDs, der Knorpelkallus explantierte und deshalb keine oder nur sehr spärliche Zellwanderung erhielt, weil, wie er angibt, die Elemente gewissermaßen von der dichten Grundsubstanz umschlossen und maskiert sind. Im allgemeinen wachsen bei Knorpelxplantaten in erster Linie die perichondralen Elemente. POLICARD und BOUCHARLAT erhielten aus Perichondriumexplantaten immer Fibroblastenreinkulturen, nicht aber spezifische Knorpelzellen. Aus reinem Knorpel ohne Perichondrium wachsen nach POLICARD Makrophagen aus. A. FISCHER hat aus Knorpelxplantaten Fibroblastenreinkulturen und Elemente epithelialen Charakters erhalten. Das letztere trat dann ein, wenn die Kulturen an die Oberfläche eines harten Gerinnsels gesetzt worden waren. STRANGWAYS und FELS Untersuchungen ergaben, daß Knorpelblastem *in vitro* echte Knorpelgrundsubstanz zu bilden vermag. Es handelt sich hier in diesem Falle um eine kurze Fortdauer der *in situ* schon vorhandenen Differenzierungsprozesse. Weiter berichtet FELL über Knorpel- und Knochenbildung in Kulturen von Knochenfragmenten aus der Tibia etwa 12tägiger Hühnerembryonen. Knorpel, osteoides Gewebe und Knochen waren dabei immer zugleich vorhanden, also es handelte sich offenbar nicht um Reinkulturen. A. FISCHER gibt an, Knorpeldifferenzierung aus einem Fibroblastenstamm erhalten zu haben, der bereits 9 Monate *in vitro* gewachsen war.

Die Versuche mit Knochenexplantation haben eigentlich niemals zur Bildung von Knochengewebe geführt, wie wir es aus den Beschreibungen der klassischen Histologie kennen. POLICARD erhielt gewöhnlich Fibroblastenkulturen. Nach DOLJANSKY sollen Osteoblasten *in vitro* ihre morphologische Spezifität längere Zeit beibehalten. Sie entwickeln dann fadenförmige, in kontinuierlicher Verbindung stehende feine Fortsätze (s. auch FISCHER, STUDITSKY). Auf Grund eigener Beobachtungen kann ich die von DOLJANSKY gegebenen Abbildungen von Periostzellen bestätigen. Die auffälligen groben Granulationen im Plasma und die plumpen, kurzen Elemente sind leicht in explantierten embryonalen Skapulafragmenten nachweisbar. Aus kleinen Periostfragmenten haben

STRANGWAYS und FELL Knochengewebsbildung in vitro erhalten. Die von FELL beschriebenen Bildungen (1932) habe ich in Mutterstücken beobachten können, niemals aber in der Wachstumszone. In diesem Teile der Kultur sind, damit bestätige ich die Resultate POLICARDS, nach Periostr-, Perichondrium- und Knochenexplantationen immer rein zelluläre, im Vergleich mit den korrespondierenden Bildungen in situ grundsubstanzarme oder -freie Gewebe vorhanden, die keinerlei Andeutung einer lamellären Struktur erkennen lassen. Dagegen läßt sich nicht leugnen, daß die Knorpelanlage, d. h. das explantierte Fragment als Ganzes ein Stück weiter wächst und sich in vitro über eine kurze Zeitspanne zu vergrößern vermag (FELL, STRANGWAYS). Ähnliches beschreibt auch A. FISCHER (s. auch die Arbeiten von DEMUTH, PARKER, FRIEDHEIM). Nach FRIEDHEIM sind osteogenes und chondrogenes Gewebe dem Wesen nach identisch. Unter mechanischen, funktionellen Einflüssen würden seiner Meinung nach die weiteren Differenzierungen und besonders die Natur der abgelagerten Grundsubstanz bestimmt. Nach FISCHER soll das Knorpelgewebe auch von Elementen gebildet werden können, die nicht zur Knorpelbildung präformiert gewesen sind. Zum Beweis führen FISCHER und PARKER an, daß man auch aus alten Fibroblastenstämmen Knorpelgewebe züchten könne (?).

Im allgemeinen zeigen meine Kulturen von Knorpel und Knochengewebe (Klavikula und Skapula 8—12tägiger Embryonen), daß die Mutterstückstrukturen länger als bei anderen, grundsubstanzarmen Gewebeexplantaten erhalten bleiben und in geringem Grade einer Volumenzunahme fähig sind. Das beruht darauf, daß die durch die relativ starke Maskierung seitens der Grundsubstanzen an sich schon an einen sehr trägen Stoffwechsel gewöhnten, kernhaltigen, protoplasmatischen Elemente offenbar in besonderer Weise widerstandsfähig sein müssen. Denn es bestehen bekanntlich im Knorpelgewebe keine besonderen Saftbahnen, in welchen Ernährungssäfte zirkulieren könnten. Die Ernährungssäfte gelangen offenbar durch Imbibition aus den Gefäßen des Perichondriums zwischen den kollagenen Fibrillen hindurch in das Innere zu den einzelnen Elementen. Dasselbe gilt für die kommunizierenden Knochenkanälchen oder die Primitivröhren. Die Ernährung des Knochengewebes in situ erfolgt durch ein äußere und innere Oberfläche durchsetzendes Hohlraum- oder Kanalsystem, durch welches die Nährstoffe hindurchdiffundieren. Es müssen also gewisse spezifische Eigenschaften hinsichtlich Ausdauer, Ernährung und Erhaltungsfähigkeit der Knorpel-Knochenstrukturen auch in vitro gegeben sein, wenn Formationen zustande kommen sollen, wie sie von STRANGWAYS und FELL besonders beschrieben worden sind, Eigenschaften, die der gewöhnliche Fibrozyt nicht besitzt, die es den betreffenden Zellen aber in vitro ermöglichen, eine Zeitlang ihr histiotypisches Wachstum fortzusetzen. So erklären sich die Bilder, die H. B. FELL z. B. an den mehrere Tage lang in vitro gezüchteten, relativ großen Tibiafragmenten eines Hühnerembryos demonstriert

hat und die ganz deutlich eine Größenzunahme im ganzen und eine beginnende Verknöcherung oder vielleicht besser Verkalkung der Grundsubstanzen zeigen. Immerhin sind sehr große Unterschiede in Struktur und Art des ganzen Vorganges, verglichen mit den parallelen Vorgängen in situ, nicht zu leugnen. Denn wir wissen, daß Ossifikation in situ an Vaskularisation des betreffenden Gewebes gebunden ist (HINTZSCHE). Dieses Phänomen aber fällt in vitro weg. Wir wissen, daß der Ossifikationsvorgang in situ ein komplexer Prozeß ist, bei dem verschiedene und heterogene Elemente zusammenwirken. Die Frage, die bis heute noch nicht zu beantworten ist, wäre also die: Lassen sich Reinkulturen von bereits spezifisch determinierten Osteoblasten gewinnen, die auch ohne Gefäßbeteiligung imstande sind, osteogenes Gewebe zu bilden in der Wachstumszone der Kultur? — Das ist aber bis heute noch nicht bewiesen worden. Denn vielfach handelt es sich bei den beschriebenen Strukturen und Kulturen um kontrolliertes Wachstum, wie G. LEVI schon sagt, welches im Mutterstück vor sich geht, und um einfache Verkalkungsprozesse. Die exakte Analyse der Wachstumszone ergibt jedenfalls, daß aus Knorpel- wie aus Knochengewebeexplantaten ein zelluläres Wachstum retikulärer Formationen einsetzt, wie es POLICARD, BOUCHARLAT, WJERESZINSKY beschrieben haben. Auch die von DOLJANSKY und STUDITSKY gemachten Versuche bestätigen das, wenn auch DOLJANSKY eine besondere spezifische Strukturierung der Osteozyten beschreibt. Die spezifische Form des in situ gewachsenen Gewebes ist jedoch eine andere, und die prospektiven Potenzen der aus Knorpel und Knochen gezüchteten Elemente bleiben meistens latent, sie vermehren sich wie die gemeinen Fibroblasten, zeigen retikuläre Anordnung, bilden aber kein differenziertes Gewebe mit spezifischer Anordnung der Grundsubstanz wie in situ.

Zusammenfassend läßt sich also sagen, daß die Fibroblastenkulturen zweierlei hauptsächlich zeigen: 1. Die Potenzen der embryonalen wie der erwachsenen Fibrozyten in bezug auf Vermehrung der kernhaltigen protoplasmatischen Masse in Form dreidimensionaler retikulärer Formationen sind uneingeschränkt erhalten. 2. Die Potenzen der embryonalen Fibroblasten, die spezifischen mesenchymatischen Differenzierungen durchzumachen und Fasern, Knorpel, Knochen und Fettgewebe zu bilden, sind in der Wachstumszone nur teilweise realisierbar. Das heißt, in der Wachstumszone lassen sich verschiedenartige Faserstrukturen und Interzellulärsubstanzen nachweisen, typische Knorpelstrukturen bis zu einem gewissen Grade (FELL), Knochenstrukturen und Fettgewebstrukturen aber überhaupt nicht.

Aus diesem Sachverhalt ergibt sich, daß der multipotente, mesenchymale Fibroblast in vitro bei Anwendung der üblichen plasma-embryonal-extrakthaltigen Nährböden seine Fähigkeiten nicht vollständig zu entfalten vermag und daß der durch das Medium und die Explantationsprozeduren ausgeübte Reiz kein spezifischer ist, sondern sich nur an die

Teilungsfähigkeit der Zelle hauptsächlich wendet, wobei allerdings zuzugeben ist, daß in dem Mutterstück die spezifischen Strukturen sich offenbar längere Zeit zu halten und bis zu einem gewissen Grade sogar Massenzunahme zustande zu bringen vermögen (FELL) (s. Abschn. D, d).

β) Das Muskelgewebe.

Glatte und quergestreifte Muskulatur wächst *in vitro* auch in Form eines dreidimensionalen Retikulums. Nach W. H. LEWIS variieren die glatten Muskelemente sehr beachtlich in Form und Größe. Nahe dem Explantatmutterstück neigen sie vielfach dazu, bandartige Bildungen einzugehen, und zeigen rhythmische Kontraktionen, während sie in der Peripherie groß und flach werden und selten Kontraktion zeigen (LEWIS). Die ein Retikulum bildenden Zellen sind durch Übereinanderlagerung miteinander verhaftet oder auch durch Fortsätze, die denen der Mesenchymelemente ähnlich sind, verbunden. Nach W. H. LEWIS können die glatten Muskelemente ein adhärentes Retikulum formen wie die Bindegewebelemente oder zu isolierten Zellen auseinandergehen. "There is more reason to look upon the outgrowth as an adherent reticulum than as a syncytium" (W. H. LEWIS). LEWIS gibt aber zu, daß es viele Stellen im Präparat gibt, wo man nicht mit Sicherheit unterscheiden kann, was eigentlich vorliegt, ob ein Synzytium oder ein adhärentes Retikulum. LEWIS lehnt die Befunde CHAMPYs ab, der eine weitgehende Entdifferenzierung der glatten Muskelemente *in vitro* beobachtet haben will. Das Muskelzellplasma ist nach LEWIS stärker lichtbrechend als das der Mesenchymelemente oder der Endothelien und nach Fixierung und Färbung sind oft Myofibrillen intraplasmatisch gelagert zu beobachten. LEWIS hat hauptsächlich glatte Muskulatur vom Amnion verwandt. In Darmkulturen, wo ebenfalls Wachstum glatter Muskelemente zu erwarten wäre, ist es nicht möglich gewesen, glatte Muskelemente von Mesenchymzellen zu unterscheiden. CHAMPY dagegen verwendete vorwiegend Material von Blase und kleinen Arterien vom Kaninchen. Die ausgewanderten Elemente verlieren nach seinen Beschreibungen vollständig ihre spezifischen Merkmale.

SZANTROCH hat glatte Muskelzellen aus dem Amnion gezüchtet. LEVI und BUCCIANTE geben an, in glatten Muskelzellen nahe dem Explantatmutterstück feine Längsstreifung gesehen zu haben. Nach LEWIS dagegen erscheint das lebende Protoplasma frei von fibrillären Einschlüssen ("Fixation often gives rise to typical myofibrills", LEWIS).

Über das Verhalten der quergestreiften Herzmuskulatur ist bereits berichtet worden. Embryonale Herzmuskelemente bleiben im Mutterstück bestehen unter Erhaltung ihrer besonderen strukturellen und funktionellen Eigenheiten. Das gilt für eine gewisse Zeit vom Beginn der Explantation ab. Die in das Medium hineinwachsenden Elemente zeigen nur am Anfang vereinzelte Querstreifung. Nach BURROWS (1910, 1911,

1912) wachsen kurze Ketten quergestreifter Muskulatur in das Medium und zeigen Kontraktion vom 2. bis zum 6. Tage etwa. Nach W. H. LEWIS werden sehr selten einzelne isolierte Herzmuskelzellen beobachtet, die einen anderen Rhythmus der Kontraktion zeigen als der Rest der Kultur. Nach W. H. LEWIS und M. R. LEWIS ist der Prozentsatz derjenigen Kulturen, die Auswanderung von *Herzmuskelzellen* zeigten, sehr klein (s. auch BURROWS). Damit nimmt LEWIS denselben Standpunkt ein wie CARREL, daß die in älteren Kulturen zu findenden Elemente und Formationen nicht myoblastischer Natur sind. LEWIS schreibt (1924), daß von den über 3000 Kulturen vom Herzmuskel, die er angelegt hat, ungefähr 8% derjenigen von 6—7tägigen Embryonen stammenden Herzkulturen, 11% derjenigen von 4tägigen Embryonen und nur 2% der von 11tägigen Embryonen stammenden Herzkulturen wandernde Muskelemente gezeigt hätten. Herzmuskel beginnt nach LEWIS nicht früher als am dritten oder vierten Tage zu wachsen. Das Wachstum ist langsam und verläuft in Form eines groben Retikulums, es nimmt niemals solche Ausdehnung an wie das mesenchymatische. G. LEVI dagegen nimmt seinen bekannten Standpunkt ein, daß auch die in den alten Herzkulturen zu findenden Elemente indifferente Myoblasten und keine Fibroblasten seien (s. S. 375).

Nach OLIVOS Untersuchungen sind strukturelle Differenzierung und funktionelle Einwirkung künstlich voneinander zu trennen. Der Autor züchtete Herzkulturen in KCl-haltigem Plasma. Das Kaliumchlorid soll nach seinen Angaben die Kontraktilität hemmen. Unter solchen experimentellen Bedingungen wuchsen Herzkulturen, ohne Pulsation zu zeigen. Bei der histologischen Schnittuntersuchung nach Anwendung von Spezialfärbung stellte sich aber heraus, daß die Explantate reichlich neugebildete, quergestreifte Myofibrillen enthielten. Demnach scheint keine kausale Beziehung zu bestehen zwischen Differenzierung der Myofibrillen und funktioneller Tätigkeit.

Pulsationen isolierter Herzfragmente sind von CARREL, BURROWS, LAMBERT und HANES zuerst bis zu einigen Tagen (17 Tage, BURROWS) erhalten worden. Auch G. LEVI beschreibt ähnliches. LAKE teilt die Meinung LEVIS von der myoblastischen Natur der ausgewachsenen Herzmuskelemente. Nach LEVI und OLIVO können sich sogar Explantate von undifferenzierten Herzanlagen in vitro noch differenzieren. Sie zeigen einen Monat lang Pulsation. Kulturen von Herzfragmenten 24—30 Stunden alter Hühnerembryonen pulsierten nicht unmittelbar nach der Explantation, aber einen bis zwei Tage später begannen sie damit, und sie sollen nach OLIVO und LEVI 4 Wochen lang in einem solchen differenzierten Zustande gehalten worden sein. Damit wäre ähnlich wie bei den Nervenkulturen bewiesen, daß progressive Differenzierung in vitro möglich ist aus indifferentem Material. Allerdings sind hier wie dort die ursächlichen Faktoren des Mediums nicht genauer zu bestimmen, wenigstens vorläufig noch nicht.

Auffällig ist, daß einige Autoren angeben, bei pulsierenden Elementen keine Myofibrillen beobachten zu können im Zytoplasma (LEWIS, BUCCIANTE, LAKE, BURROWS). W. H. LEWIS äußert sich besonders skeptisch in dieser Hinsicht: "We have come to conclusions not in accord with the usually accepted view, that the myofibrills of fixed material do not represent structures present in the living cell." Nach LEWIS gibt es drei Bedingungen, unter denen fibrillenähnliche Bildungen vorgetäuscht werden können und die nicht nur in Herzmuskelzellen, sondern auch in glatten Muskelementen, im Endothel, Mesothel und *Bindegewebe* (!) bestehen. Diese sind: Lineare Anordnung der Mitochondrien. Übereinanderlagerung langer, dünner Zellfortsätze. Spannungs- oder Dehnungstreifen ("tension striations"). Die Richtung der Spannung ist nach LEWIS die gleiche, wie sie die Zellfortsätze haben. Gelegentlich zeigen die Herzmuskelzellen auch nach LEWIS schöne Querstreifung, aber die meisten und auch diejenigen, welche pulsierende, rhythmische Bewegungen ausführen, haben sie nicht. LEWIS läßt die Frage offen, ob hier eine Entdifferenzierung vorliegt oder ob die Querstreifen einen der möglichen Zustände einer reversiblen kontraktiven Substanz darstellen. Die fixierten und gefärbten Präparate zeigten aber die typischen Querstreifungsbilder (LEWIS).

Auch Goss ist jüngst zu ähnlichen Resultaten gekommen. Myofibrillen sind nicht mit Sicherheit im lebenden Protoplasma jederzeit zu beobachten. Nach den Angaben von Goss (1933) konnte in 5 Wochen alten Kulturen Querstreifung in einigen Zellen beobachtet werden bei mäßiger Vergrößerung (4,3 mm Objektiv). Sehr merkwürdig aber ist es, daß bei höherer Vergrößerung (1,3 mm Objektiv) die Querstreifung nicht zu erkennen war. Das einzige, was dabei zu sehen war, war eine Anordnung der Mitochondrien, derart daß sie abwechselnd Licht und Schatten zeigten und eine gewisse Ähnlichkeit mit Querstreifung infolge ihrer Anordnung aufwiesen. Goss äußert sich folgendermaßen: "Since the mitochondria are not visibly affected in certain cells although there are alternating bands in the peripheral cytoplasm, it is believed that they play no direct part in the formation of cross striations." — Das quergestreifte Aussehen könne nach Goss (1933) vorgetäuscht werden durch regelmäßige Anordnung von Mitochondrien in transversalen und longitudinalen Reihen. Das Bild der lebenden Kultur ist aber in gewisser Hinsicht unähnlich demjenigen der fixierten und gefärbten Präparate (Goss). Der Autor äußert sich in diesem Punkte nicht sehr klar. Obwohl zwei charakteristische Strukturen nach Goss in alten fixierten Herzmuskelkulturen gefunden werden konnten, nämlich Myofibrillen und Telophragmata, konnten diese Bildungen nicht identifiziert werden in lebenden Zellen. FRIEDHEIM kommt zu ähnlichen Schlüssen. Diese Autoren sowie OLIVO, LEVI bestätigen die von LEWIS und BURROWS wohl zuerst aufgedeckte Tatsache, daß Kontraktion nicht notwendigerweise an irgendeine Differenzierung von Myofibrillen

gebunden ist. Nach FRIEDHEIM ist demnach die Myofibrille ein Kunstprodukt. Diese Vermutung ist oft ausgesprochen worden. Das gilt in gleicher Weise für Herz- und Skelettmuskulatur. Die eigentliche Grundlage der Kontraktilität ist nach Angaben dieser Autoren ultramikroskopisch und zur Zeit noch dunkel. Auch G. LEVI äußert sich in diesem Sinne. FRIEDHEIM gibt aber an, bei Hühnchenskelettmuskel-explantaten im polarisierten Lichte Querstreifung gesehen zu haben. Ferner sollen bei elektrischer Reizung nur jene Fasern reagieren, die im polarisierten Licht Querstreifung zeigten. OLIVO hat dieselbe Methode angewandt und kommt zu entgegengesetzten Resultaten: Das Kontraktionsvermögen ist weder an Myofibrillen noch an Querstreifung gebunden. — Die Tatsache, daß in frühembryonalen Stadien der Muskelexplantate, deren Elemente vorwiegend oder ausschließlich sarkoplasmatisch sind, Kontraktilität nachweisbar und experimentell zu erzeugen ist, ohne daß irgendwelche Myofibrillen vorhanden wären, sind von Bedeutung. Die diesbezüglichen Befunde sind ziemlich einheitlich (LEWIS, LEVI, OLIVO, GOSS, FRIEDHEIM, RÉNYI, HOGUE). Man beobachtet keine Myofibrillen im lebenden Protoplasma, aber alternierende Streifen, helle und dunkle abwechselnd, entsprechend den Lichtbrechungsunterschieden. Nach Goss spielen die Mitochondrien keine direkte Rolle bei der Bildung der Querstreifung in dem Sinne, daß sie selbst durch ihre Anordnung die betreffende Struktur erzeugen. Vermutlich aber tragen sie durch Produktion wichtiger chemischer Substanzen dazu bei, die fraglichen Streifen zu bilden.

Genau wie bei den differenzierten bindegewebigen Strukturen (Knorpel und Knochen) die spezifischen strukturellen und funktionellen Besonderheiten im Mutterstück eine Zeitlang erhalten bleiben und fortbestehen, so verhält es sich auch beim Herz- und Skelettmuskelgewebe *in vitro*. Wir haben hier wie dort wieder den typischen Unterschied zwischen Ursprungsgewebe oder Mutterstück auf der einen Seite und Wachstumszone auf der anderen Seite. Dieser Dualismus ist auffällig und wird mit konstanter Regelmäßigkeit beibehalten in den Kulturen aller apothelialen Gewebe.

Als wichtige Tatsachen lassen sich kurz zusammenfassen: Die Kontraktionsfähigkeit ist offenbar nicht an die Existenz von Myofibrillen gebunden, die im lebenden Präparat vielfach vermißt werden und deren Natur von LEWIS besonders analysiert worden ist. Das Übermaß von Myofibrillen wirkt nach LEVI *inhibitorisch* auf den Automatismus der Muskelfasern. Die automatische Tätigkeit der Kontraktion habe ihre strukturelle Grundlage ausschließlich im Sarkoplasma.

γ) Das Nervengewebe.

Das Nervenwachstum verläuft im allgemeinen in drei wohlgesonderten Phasen: 1. Primäre, kernfreie Nervenbahnen. 2. Kernhaltige nervöse Gitter. 3. Das Neuroepithel. Differenziertes Wachstum zu Beginn der

Explantation ist also das hauptsächlichliche Kennzeichen des Verhaltens dieses Gewebes *in vitro*, differenziertes Wachstum in einer Weise, wie sie bei allen anderen explantierten Körpergeweben nicht in solcher Eindeutigkeit erreicht wird.

Während die Explantate der übrigen apothelialen und epithelialen Gewebe (Bindegewebe, Muskelgewebe, Drüsen) von Anfang an gesteigerte Zellulationsvorgänge erkennen lassen in der Wachstumszone, ist das Gegenteil der Fall in den Nervenkulturen. Hier sieht man nicht solche Zellmassen im Randschleier, wenigstens nicht in den Anfangszeiten, kurz nach erfolgter Explantation. In älteren Kulturen ändert sich das Bild allerdings. In der dritten oben erwähnten Phase des neuroepithelialen Wachstums können recht ausgedehnte Membranbildungen zustande kommen. Das explantierte Nervengewebe zeigt im allgemeinen eine viel größere Formenmannigfaltigkeit als die anderen Körpergewebe.

Zwei weitere wichtige Erscheinungen sind festzustellen, die bis zu einem gewissen Grade für das Nervenwachstum *in vitro* charakteristisch sind. Es treten sehr häufig Verflüssigungen des plasmahaltigen Nährbodens auf. Und zum anderen, wohl damit zusammenhängend, finden sich in den Explantatmutterstücken vielfach merkwürdige Phänomene, die zu einem Auseinanderweichen des gesamten Mutterstückes führen, ohne daß es zu regressiven Veränderungen, zunächst wenigstens, kommt. G. LEVI beschreibt dies besonders häufig in Spinalganglienexplantaten, und er hat seinen Abbildungen, die spezifisch nervöse Strukturen zeigen, wohl hauptsächlich solche Kulturstücke zugrunde gelegt. Durch das auffällige Auseinanderweichen der Mutterstückstrukturen lassen sich gute Einblicke tun in den gegenseitigen Zusammenhang der Teile. Es handelt sich jedoch nicht um Neubildungen *in vitro*, sondern um Strukturen, die von Anfang an vorhanden waren. Soweit besteht wohl allgemeine Einigkeit unter allen denen, die sich mit Nervenzüchtung befaßt haben. Die zeitliche Dauer des spezifischen Wachstums ist verschieden je nach der angewandten Technik. In Deckglaskulturen, die jeden zweiten Tag umgesetzt werden, verschwinden die spezifischen Strukturen relativ rasch, und es herrschen dann die Zellulationsvorgänge vor. In Flaschenkulturen dagegen liegen die Verhältnisse anders. Hier kann das spezifische Wachstum länger erhalten werden. Das ist allgemein bekannt, und es bestehen in dieser Hinsicht keine Gegensätze (HARRISON, BURROWS, INGEBRIGTSEN, MARINESCO und MINEA, G. LEVI, S. MOSSA, OLIVO, ESAKI, VERNE, MARTINOVITCH, LAZARENKO, GRIGORJEFF, K. BAUER). Die Meinungsunterschiede beziehen sich auf einige Fragen, die die Deutung der gewachsenen Strukturen betreffen, besonders ihrer kernhaltigen Teile und die weiterhin an allgemeine und grundsätzliche Einstellungen zum Zellproblem und Kontinuitätsproblem rühren. Gehen wir zunächst von den primären kernfreien Nervenbahnen aus (Abb. 16 und 17).

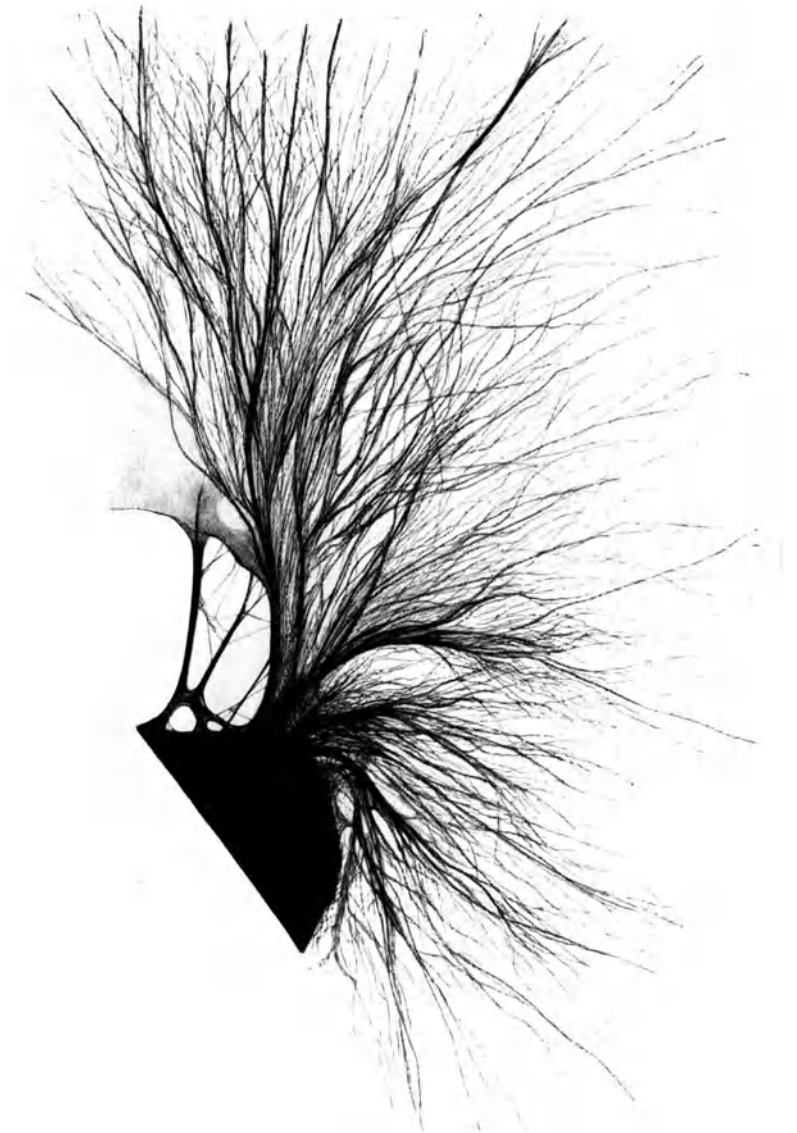


Abb. 16. Kultur aus dem Gehirn eines 10 Tage alten Hühnerembryos. 1. Phase: Primäre, kernfreie Nervenbahnen, 3 Tage post explantat. Marklose Neuriten, teils isoliert verlaufend, teils ein kontinuierliches dreidimensionales Gitter bildend. Die peripheren Wachstumskolben sind in der Zeichnung weggelassen. Die Nervenfasern sind in Wirklichkeit länger. Links kleiner zirkumskriptor Verflüssigungsherd, in welchem die Nervenfaserbündel gestreckt verlaufen. Fixierung und Färbung nach HELD. Gezeichnet von B. Neresheimer, München.

Das erste, was HARRISON beobachtete, waren Neuriten, die auf Grund einer Protoplasmabewegung in die geronnene Froschllympe eindrangten. An der Wachstumsspitze des Axons waren die bekannten, schon von

CAJAL und HELD in situ beschriebenen Schwellungen, Wachstumskeulen mit sehr feinen, schmal ausgezogenen Protoplasmafäden zu sehen. Es waren dieselben Bilder. Das Längenwachstum der Neuriten geschieht nach HARRISON infolge einer besonderen Art Protoplasmabewegung, die vom kernhaltigen Teil ausgeht. Die Endkolben können verschiedene

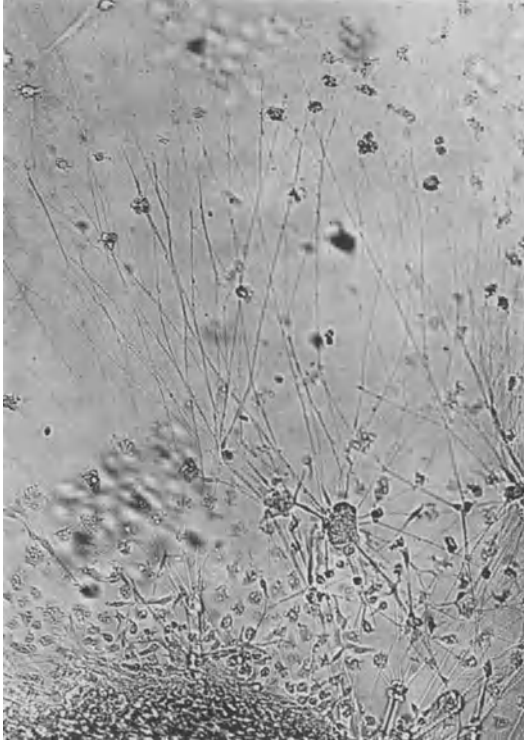


Abb. 17. Lebendphotographie einer Nervenkultur aus dem Vorderhirn eines 10 Tage alten Hühnerembryos. Übergang von der ersten zur zweiten Phase. Beginnende Zellulation im Zentrum der Wachstumszone. Peripherwärts sind noch die Reste der primären Nervenfasern zu sehen. Zustand 5 Tage post explantat.

Formzustände annehmen, aus ihnen treten gewöhnlich sehr feine und dünne Fädchen aus, die kurz sind und im Medium verdämmern. Im Verlauf der wachsenden Nervenfortsätze finden sich vielfach kleine, multiple Anschwellungen in gewissen Abständen vor, die wir im Anschluß an BIELSCHOWSKY als sichtbaren Ausdruck einer rhythmischen, wellenförmigen Protoplasmabewegung, ausgehend vom kernhaltigen Protoplasmaleib, gedeutet haben (K. BAUER). Diese in der Wachstumszone auftretenden Neuriten sind marklos und bleiben es auch dann, wenn ihnen glöse Elemente nachwandern, sie in ihrem Protoplasma einschließen und zu sekundären Gebilden mit ihnen verschmelzen nach Art der Leitzellen in situ im Sinne H. HELDs (Abb. 28).

Die Länge dieser nervösen Fortsätze ist ganz verschieden, es treten immer wieder neue auf und komplizieren so das Gitter. Die ältesten erreichen eine Länge bis zu 1000 μ oder darüber. Sie verlaufen gewunden oder gerade. Besonders dann, wenn mehrere, 10 oder 20, enger zusammengelagert sind und auf diese Weise einen kleinen Nervenstamm bilden, ist ein gerader Verlauf charakteristisch, bis sich dann plötzlich büschelartig das Ganze entbündelt und in Beziehung mit benachbarten Strukturen gleicher Natur tritt (s. Abb. 19). Die nervösen Bündel verlaufen meistens isoliert, aber sie werden nicht so lang wie die Einzelfasern, sondern entbündeln sich, wie gesagt. Ebenso wie sich die gröberen und dickeren Stämme schließlich aufzweigen und in enge Beziehungen zu den Nachbarstrukturen treten, so tun das auch die Solitärfasern. Sie verzweigen sich immer. Das wird von LAZARENKO bestritten, der solche Stellen als Überkreuzungen zweier Axone deutet. Hier beginnt bereits die erste wichtige Streitfrage, die größere Bedeutung hat, als es zunächst den Anschein haben mag. Es wachsen mit der Zeit zahllose solcher Axone aus in den Nährboden. Sind sie nun isolierte Fasern, ohne jegliche anatomische Beziehung untereinander? Sind es wirklich alle Neuriten oder nicht auch Dendriten und andere Fasern, gliöser Natur?

Zunächst muß die Beteiligung anderer, nicht nervöser Strukturen ausgeschaltet werden bei der Betrachtung. Es ist eine sehr auffällige Tatsache, daß solche kernfreie, dreidimensionale „Gitter“, wie ich sie im Anschluß an HELD genannt habe, absolut zell- oder kernfrei bis zu einigen Tagen *in vitro* bestehen und wachsen können. Erst nach einigen Tagen treten Kerne auf. Es handelt sich also um eine nervöse Reinkultur im wahrsten Sinne des Wortes, und zwar um eine Reinkultur ohne sichtbare, zelluläre Elemente in der Wachstumszone. Das ist ein morphologisch auffälliges Phänomen. Das Gehirn 5—10tägiger Hühnerembryonen, das meinen Untersuchungen im wesentlichen zugrunde gelegt worden ist, enthält um die Zeit der vorgenommenen Explantation nur spärliche mesenchymatische Bestandteile, die sich außerdem sehr leicht und vollständig mit den Hirnhäuten bei der Präparation des Materiales entfernen lassen. Wären Fibroblasten in größerem Ausmaße an der Schnittfläche des Explantates mit vorhanden, so wäre nach den ausgedehnten Erfahrungen, die wir über diese Elemente besitzen, ein kernfreies Wachstum von nervösen Gittern im oben beschriebenen Sinne überhaupt nicht möglich. Denn wir wissen, daß diese Elemente, wenn sie vorhanden sind, im Explantatmutterstück, kurz nach Beginn der Explantation zu wuchern anfangen. Sie haben eine kurze Latenzzeit. Ich kann mich also der von BOEKE geäußerten Meinung, „daß man in Nervenkulturen auch immer Fibroblasten dabei habe“¹, nicht anschließen. In meinen Kulturen ist das nicht der Fall, wenn man das embryonale Gehirn gut von den bindegewebigen Häuten gereinigt hat. Anders als die embryo-

¹ BOEKE, J.: Diskussionsbemerkung. Anat. Anz. Erg.-H. 83, 23 (1937).

nalen Gehirnkulturen verhalten sich in diesem Punkte diejenigen, welche von Gehirnen erwachsener Säuger stammen. Wenn man Gehirnfragmente erwachsener Meerschweinchen explantiert, so ergibt sich bereits in den Anfangsstadien, daß nicht primäre, kernfreie Nervenbahnen auftreten, sondern immer Zellen, die bald als isolierte Elemente, bald als mehr länglich gestreckte Formen imponieren und deren Herkunft schwer zu bestimmen ist, die offenbar ebensosehr im Bindegewebe und Gefäßapparat wie in der Neuroglia ihren Ursprung haben, nicht aber im spezifisch nervösen Gewebe (K. BAUER, unveröffentlichte Versuche). Dieser Versuch zeigt also, daß, wenn Bindegewebszellen mit den Hirnhäuten sich nicht mehr vom Gehirn isolieren lassen, sie auch immer zu Beginn der Explantation mit auswachsen. Die primären kernfreien Nervenbahnen jedoch sind frei von irgendwelchen mesenchymatischen Bestandteilen. An der Bildung jener Gitter sind nur nervöse oder glöse Elemente beteiligt, denn sie bleiben für gewisse Zeit kernfrei.

In diesem Punkte kann ich auch nicht den jüngst von G. LEVI veröffentlichten Ergebnissen zustimmen. LEVI beschreibt Befunde, die je nach der angewandten Temperatur verschieden waren. Nervenfasern sollen zellfrei auswachsen bei niedrigerer Temperatur, während bei 37° C *Fibroblasten* auftreten sollen. Bei niedriger Temperatur sind die Zellulationsprozesse in allen Gewebeskulturen verschiedenster Herkunft vermindert und gehemmt. Bei dieser Gelegenheit muß hingewiesen werden auf die bereits erörterte Tatsache, daß sich Nervengewebe aus Gehirnen junger Embryonen *nach der anatomischen Elektivmethode züchten lassen*, daß sich also von vornherein fibroblastenlose Fragmente explantieren lassen. Und zweitens möchte ich hinweisen auf einen analogen Fall, in welchem LEVI eine sehr exponierte Stellung bezogen hat, der aber in gewisser Weise hierher gehört: Auf die Herzexplantate. LEVI führt zur Begründung seiner Annahme, daß die Herzexplantate nicht aus Fibroblasten, wie CARREL und die Mehrzahl der Forscher angeben, bestehen, sondern aus echten Herzmyoblasten, folgendes an: *Die Zahl der Mesenchymzellen sei so gering im Herzen zu jener Zeit der Explantation, daß sie in keiner Weise die Matrix jener Elemente bilden können, die gleich nach der Explantation zu wandern beginnen.* — Nun, dasselbe gilt in noch viel höherem Grade für die Kulturen aus embryonalen 5—10tägigen Gehirnfragmenten. Denn diese enthalten, wenn man die bindegewebigen Häute richtig isoliert und wegnimmt, überhaupt keine Fibroblasten. Es ist unverständlich, warum G. LEVI in diesem Falle plötzlich einen anderen Standpunkt einnimmt.

Die Frage der Überkreuzungen und der Anastomosen in jenen Gittern hat Anlaß zu zahlreichen Kontroversen gegeben (v. MIHÁLIK, LAZARENKO, G. LEVI, K. BAUER). Es ist ohne weiteres klar, daß es sich hier um eine Frage von prinzipieller Bedeutung handelt. Das kernfreie Gitter läßt sich nach meinen Untersuchungen nicht mehr in einzelne

Zellbestandteile auflösen, es ist vielmehr ein komplexes, kontinuierliches Gebilde (s. Abb. 16, 17 ff.).

LAZARENKO steht mit seiner Auffassung, daß die Nervenfortsätze *in vitro* selbständige und isolierte Gebilde seien, nicht allein da. CAJAL veröffentlichte in seiner letzten Arbeit eine Abbildung zu dieser Streitfrage, und den gleichen Standpunkt vertritt v. MIHÁLIK. Die Abbildung CAJALS ist uns deshalb nicht beweisend, weil sie ganz offensichtlich eine typische Anfangsstruktur darstellt, und weil wir wissen, daß zu Beginn des Nervenwachstums isolierte Neuriten sich ohne große Mühe feststellen lassen und häufig sind. Sind diese Gebilde noch kurz — 100 bis 200 μ lang — dann liegen sie gewöhnlich isoliert. Erst bei längerem

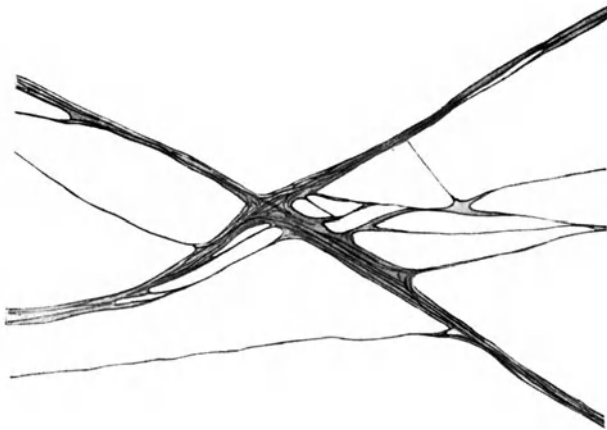


Abb. 18. Anastomose aus einer Nervenkultur bei starker Vergrößerung gezeichnet. Gefärbt nach HELD.

Wachstum und damit zusammenhängendem Größerwerden der Fortsätze treten die Komplikationen auf. Dann werden die Gitter dicht und kontinuierlich, und die einzelne Nervenfasern verliert bald ihre Individualität, indem sie sich unzählige Male aufzweigt, Seitenäste verschiedener Stärke und Länge abgibt und somit in einem komplexen dreidimensionalen Gitter aufgeht. Das läßt sich *in vitro* sehr gut feststellen, denn wir haben hier natürlich gewachsene Häutchen vor uns, bei denen nicht wie im Schnittpräparat Strukturen aus der Schnittebene herausfallen.

Einen wenig begründeten Standpunkt nimmt v. MIHÁLIK in dieser Frage ein. Die Tatsache der kontinuierlichen Netzbildung ist derartig auffällig *in vitro*, daß sie auch einem so überzeugten Vertreter der Neuronentheorie wie v. MIHÁLIK nicht entgangen ist. Dieser Autor versucht nun, folgende Erklärung für diese Phänomene zu geben: Er gibt zu, daß Verzweigungen der Neuriten in der Wachstumszone vorkommen. Das, was wir nun als Anastomosen beschrieben haben, sei nach v. MIHÁLIK weiter nichts als eine Art Verklumpung des Nährbodenplasmas an den

Überkreuzungsstellen. Das Nährbodenplasma wird verflüssigt und soll nach v. MIHÁLIK ausgerechnet an denjenigen Stellen in Spuren haften bleiben, wo Überkreuzungen vorhanden sind. Auf diese Weise werde Kontinuität vorgetäuscht. Man vergleiche unsere Abb. 18. Das ist keine „Verklumpung“ des Nährbodenplasmas! — Nun, die seitlichen Abzweigungen von feinen Fasern lassen sich hinsichtlich ihrer Morphologie überhaupt nicht von den Anastomosen unterscheiden. In beiden Fällen charakterisiert eine feine, im ganzen dornartige Protoplasmaanhäufung die betreffende Stelle. v. MIHÁLIK müßte dann konsequenterweise auch die



Abb. 19. Nervenkultur aus dem Vorderhirn eines 10 Tage alten Hühnerembryos. Zweite Phase. Kernhaltiges nervöses Gitter. Vorwiegend sekundäre Neuroblasten. Kontinuierliches Gitter. 5. Explantationstag. Zenker, Held. Gezeichnet von B. Nersheimer, München.

Abzweigungen ablehnen als Kunstprodukte. Das tut er aber nicht, sondern erkennt ihre Existenz an. Außerdem läßt sich mit Molybdänhämatoxylin sicherer als mit Silberimprägnation das Plasma des Nährbodens radikal entfärben bei der Differenzierung der Kulturen mittels Eisenalaun oder Ferrozyankaliborax. In Abb. 18, 19, 20 u. ff. sind die Verhältnisse dargestellt. Wir sehen hier einen Teil einer sehr langsam wachsenden Gitterstruktur, in welcher die überaus komplexe Natur der Anastomosen zu sehen ist. An diesen Stellen tritt ein Neurofibrillenaustausch ein (Abb. 18), derart daß Neurofibrillen aus bestimmten basalen Neuroretikula in Plasmagebiete anderer neuroblastischer Elemente übergehen. Die aus solchen Anastomosen hervorgehenden dickeren oder dünneren Fasern enthalten also jetzt neurofibrilläre Bestandteile verschiedener nervöser Elemente im Inneren. Die komplexe Natur der Anastomosen, auf die besonders

HELD anlässlich seiner histogenetischen Studien hingewiesen hat, ist von weitreichender Bedeutung, und wir bezeichnen die Tatsache, daß Produkte bestimmter Neuroretikula vermittels der Anastomosen in andersartige Teile oder in neuroplasmatische Bahnen, die von anderen

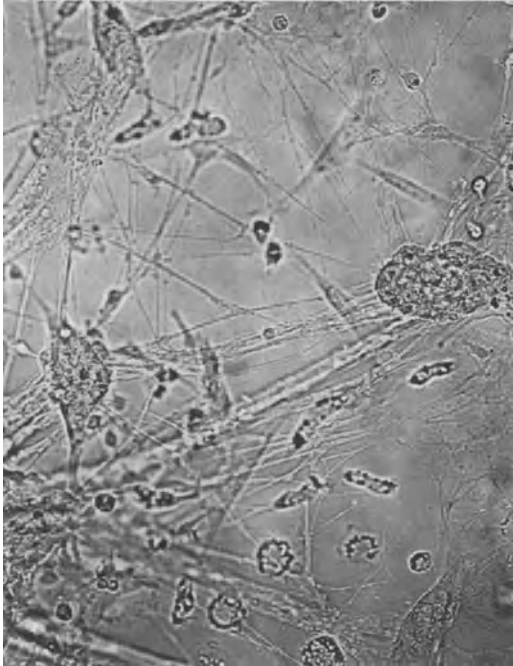


Abb. 20. Lebendphotographie aus einer Nervenkultur (Vorderhirn eines 10 Tage alten Hühnerembryos) 10. Explantationstag. Zweite Phase des kernhaltigen nervösen Gitters. Vereinzelte solide Neuroepithelinseln (*ne*).

Elementen herrühren, wachsen als ‚enzytiales‘ Wachstum (HELD).

Es liegt also in der Wachstumszone ein dreidimensionales, kontinuierliches Gitter vor, welches eine gewisse Übereinstimmung zeigt mit dem sog. „Elementargitter“ (APATHY) und dem „nervösen Grundnetz“ von HELD, das in der grauen Substanz des Kleinhirns nachgewiesen wurde und offenbar eine allgemeine Einrichtung aller grauen Substanzen des Gehirnes ist. Es ist nach HELD eine Übergangsformation zwischen nervösen und gliösen Elementen, und es beteiligen sich an seinem Zustandekommen nicht nur die Neuriten und ihre Seiten-

zweige und die Dendriten, sondern auch die gliösen Fortsätze. Es ist neurofibrillenhaltig, zum Teil aber nur neuroplasmatisch und glioplasmatisch.

Die nervösen Gitter bilden sich mit Regelmäßigkeit *in vitro* heraus und können — das ist das Wesentliche — tagelang in kernfreiem Zustande existieren. Die Kontinuität *in vitro* ist in erster Linie eine neuroplasmatische. Später treten auch Neurofibrillen auf. An den Anastomosen sind Neurofibrillen und ihre Umlagerung besonders deutlich wahrzunehmen, was man auch schon am lebenden Objekt infolge der Lichtbrechungsunterschiede feststellen kann. Zu Beginn des Wachstums *in vitro* finde ich meistens keine Neurofibrillen, wenn die Explantate von jungen, 5—8 Tage alten Hühnerembryonen stammen. Dann ergibt sich gewöhnlich zunächst ein rein neuroplasmatisches Gitter. Die Neurofibrillen wachsen sekundär ein in jenes Gitter, sie sind ein Gradmesser für den Reifezustand oder Differenzierungszustand der betreffenden Kultur.

Es ist eine ganz unbegründete Auffassung, daß nervöse Gitter auch immer Neurofibrillen haben müßten (s. PETERSEN). Wir sehen nicht mit APATHY in der Neurofibrille das „Element“ der Nervensubstanz, sondern im neuroplasmatischen, kernhaltigen Teil. Die Neurofibrillen sind ein spezifisches Differenzierungsprodukt des Neuroplasmas und treten erst sekundär auf. Das gilt für die Verhältnisse in situ und in vitro gleichermaßen. Von manchen wird ihre reale Existenz überhaupt angezweifelt (PETERSEN¹).

G. LEVI beschreibt Fälle sehr raschen Wachstums zahlreicher Neuriten in Kulturen von Embryonen des 7. bis 8. Bebrütungstages, die aber schnell entarten sollen. Auf Grund seiner Beobachtungen glaubt LEVI, hier einen Fall von Regeneration bereits differenzierter Neuriten annehmen zu müssen, die keine lange Wachstumsdauer haben sollen. Es handle sich um eine abnorme Reaktion. Ich habe das auch oft beobachtet, und man kann meinen Erfahrungen nach jede Nervenkultur zu raschem Wachstum und darauffolgendem Regreß bringen, wenn man den Nährboden entsprechend zusammensetzt. *Die geeignete Dosierung des Embryonalextraktes* ist hier von eminenter Bedeutung ebenso wie die rechte Dosierung der Thyrodelösung und des Serums und der anderen Konstituenten des Mediums. In dem üblichen Fibrozytennährboden gedeihen die Nervenulturen nur kurz; hier kann es zu einem sehr raschen Aufblühen der Kulturen mit einem ebenso rasch darauffolgenden Regreß innerhalb weniger Stunden kommen. Hierüber ist an anderer Stelle ausführlich berichtet worden (K. BAUER 1938).

Die Nervenulturen haben die Richtigkeit der HISSschen Neuroblastentheorie insofern erwiesen, als sie zeigten, daß *von den HISSschen Neuroplasten das Nervenwachstum ausgeht*. Damit ist aber selbstverständlich noch nicht alles Geschehen bei der histogenetischen Differenzierung dieses Gewebes begriffen, wie die Untersuchungen von HELD hauptsächlich gezeigt haben. Diejenigen Befunde an Kulturen, die die Kontinuität der Nervenfortsätze in vitro nicht zu bestätigen scheinen, müssen als Anfangstadien einer Entwicklung angesehen werden, die über zunächst noch einfache Anastomosenbildung schließlich zu komplizierter Netzbildung führt. Das gilt für die Befunde LAZARENKO's und v. MIHÁLIK's besonders. Die älteren Stadien der Kulturen zeigen gerade mit großer Klarheit, daß enge Beziehungen bestehen zwischen den einzelnen Fasern, die in vitro weit besser zu studieren sind als in situ, weil wir hier ein natürlich gewachsenes Häutchen vor uns haben und nicht Schnittpräparate. Hinsichtlich der Anastomosen und Netze stimmen überein die Beobachtungen von G. LEVI, OLIVO, S. MOSSA, MARTINOVITCH, GRIGORJEFF, ESAKI, K. BAUER. Inwieweit die von GRIGORJEFF behaupteten hetero-kontinuierlichen Beziehungen zwischen Nervenfortsätzen und anderen mesenchymatischen Elementen in vitro (bei Parallelexplantation!) vorhanden sind, entzieht sich meiner Kenntnis. Eigene Versuche mit Parallelexplantation von Nerven- und

¹ PETERSEN, H.: Histologie und mikroskopische Anatomie, S. 753. München 1935.

Muskelgeweben, wie das GRIGORJEFF getan hat, haben Befunde ergeben, über deren Deutung ich noch nicht zu endgültiger Klarheit gekommen bin. Zum Nachweis der intraplasmatischen Lage von nervösen Strukturen in andersartigen Gewebsplasmen (Muskel, Epithelplasma) bedarf es eingehender Untersuchungen an *Querschnittsbildern*, wie das HELD vor allem zuerst gefordert hat. Das Totalpräparat gibt hier keinen exakten Aufschluß. In solchen Querschnittsbildern jedoch habe ich mich bisher



Abb. 21. Nervöser Differenzierungsherd, sekundär in vitro entstanden aus einer Neuroepithelmembran. Kontinuierliches Gitter. Neurenzytium nach HELD. Zenker, Held. Gezeichnet von B. Neresheimer, München. Aus K. BAUER: Arch. exper. Zellforsch. 22 (1938).

nicht mit Sicherheit von der Existenz nervöser Strukturen in Fibroblasten überzeugen können. Die meist stark proliferierenden Elemente der Fibroblasten oder Epithelkulturen sind in Bewegung; und so kommt es oft zu sehr innigen Aneinanderlagerungen beider verschiedenartiger Strukturen. Die Versuche werden fortgesetzt, und es mag vielleicht möglich sein, andere Resultate zu erhalten, wenn das Wachstum bei Parallelexplantaten sich technisch besser aufeinander abstimmen läßt.

Der Verlauf der nervösen Fasern ist irregulär. Einige ziehen ziemlich geradeaus, andere jedoch verlaufen geschlängelt oder zu Bündeln angeordnet. Die meisten aber lassen sich nur ein kleines

Stück weit verfolgen, da infolge der Anastomosen die Individualität der Nervenfasern rasch verloren geht. Zur Frage der die Richtung der auswachsenden Nervenfasern bestimmenden Faktoren haben sich bekanntlich A. KAPPERS (Neurobotaxistheorie) und H. HELD (Neurenzytiumtheorie) entscheidend geäußert.

G. LEVI hat in einer kürzlich erschienenen Publikation die Frage näher diskutiert, inwieweit das Plasma des Nährbodens durch Retraction Einfluß auf den Faserverlauf haben könnte. Der Autor setzt sich hauptsächlich mit meinen kürzlich veröffentlichten Befunden auseinander (K. BAUER 1938). „Non può sussistere il minimo dubbio che nelle figg. 6, 10 di BAUER e probabilmente anche nelle figg. 11, 12 le fibre tese non sono cresciute dall'espianto, ma furono stirate passivamente per sineresi del coagulo“ (G. LEVI). — Ich halte es für unwahrscheinlich, daß

die LEVISche Deutung verallgemeinert werden kann und daß durch „Retraktion“ des Nährbodensplasmas nervöse Strukturen passiv aus den explantierten Gehirnfragmenten herausgezogen werden sollen. Denn die 1000 bis 2000 μ langen nervösen Bahnen *finden sich auch in Medien, die nicht verflüssigten* und in denen sich keine Retraktion des Nährbodens bemerkbar macht (s. Abb. 16!). Es ist also doch wohl so, daß sie dank einer „vis a tergo“ wachsen, wenn auch zugegeben werden muß, daß wir über die durch Nährbodenverflüssigung zustande kommenden Spannungsänderungen in der Kultur, die zweifellos einen Einfluß auf die Wachstumsrichtung ausüben können, noch wenig wissen (GROSSFELD). LEVI hat in seiner Abb. 170 und 198 (1934) ähnliche Strukturen abgebildet. Dort, wo ein auffälliger, gestreckter Verlauf der nervösen Bahnen zu finden ist, ist vielfach der Nährboden verflüssigt. In Abb. 16 ist eine Stelle aus einer 3 Tage alten Gehirnkultur gezeichnet worden, in welcher sich an einer zirkumskripten Stelle (links!) ein kleiner eben beginnender Verflüssigungsherd fand. Hier wächst infolgedessen das Nervenbündel in Richtung des geringsten Widerstandes aus, d. h. gerade, gestreckt. Es ist nicht einmal notwendig, hier eine gewisse Zugwirkung seitens des zurückweichenden Nährbodenrandes anzunehmen.

Übersieht man in einer solchen Kultur wiederartig beginnende Verflüssigungsherde, so kommt es regelmäßig zu Regreß, und die Kultur kann verloren gehen. Erscheinungen, wie die in Abb. 16 dargestellten, erfordern sofortige Eingriffe zur Behebung der beginnenden Verflüssigung. Wir haben hier eines der interessantesten Phänomene in vitro vor uns, die Verflüssigung des plasmahaltigen Mediums. Wir finden, wie bereits gesagt, diese Fähigkeit in besonders ausgesprochener Weise beim Epithel (Darm vor allem), Nervengewebe, in Milzexplantaten und Karzinomexplantaten (desgleichen Sarkom). Wichtig ist, daß die Verflüssigung in kernfreien Gitterkulturen auftreten kann, aber relativ selten. Sie geht gewöhnlich in den kernhaltigen Gitterkulturen mit gesteigerter Rundzellbildung einher, besonders gilt das aber für die Neuroepithelmembranen (s. später).

Die sekundären, kernhaltigen nervösen Gitter in vitro (Abb. 19, 20, 21, 22 und 23) treten gewöhnlich auf am dritten Tage der Explantation. Es sind aber zeitliche Unterschiede möglich. Die Zellulation kann bereits am ersten Tage mitunter einsetzen; die regionäre Verschiedenheit des zur Explantation verwandten Gehirnes spielt dabei eine Rolle. Die Kerne liegen, worauf besonders hinzuweisen ist, niemals im Stadium des sekundären kernhaltigen Gitters so dicht, wie bei den Kulturen der übrigen Gewebe. Nach G. LEVI trennt sich vielfach ein Kranz von Neuroblasten vom Mutterstück infolge Retraktion des Nährbodens. Es ist das aber nicht die übliche und nicht die einzige Möglichkeit des Wachstums. Auch OLIVO beschreibt ähnliches und nimmt an, daß Neuroblasten in die Emigrationszone zu liegen kommen „durch passiven Zug seitens anderer wandernder Elemente“. Es sei möglich, daß durch „Dehnung der

Nervenfortsätze infolge Retraktion des plasmahaltigen Mediums“ eine Verlängerung der Faser durch Zugwirkung also zustande komme. — Dasselbe könne nach OLIVO auch in situ eintreten, wenn die Nervenfasern ihr Terminalorgan erreicht haben und diese bei dem weiteren Größerwerden sich immer mehr vom Zentralorgan entferne.

Das ist aber doch wohl nicht anzunehmen. Denn wir wissen, daß Zentralorgan und Erfolgsorgan bereits in frühen Stadien kontinuierlich mittels des epithelialen Bindegewebes (HELD) verbunden sind. Es besteht mit anderen Worten eine primäre Kontinuität. Die Nervenentwicklung ist wesentlich komplizierter, als daß sie mit solch einfachen, mechanischen

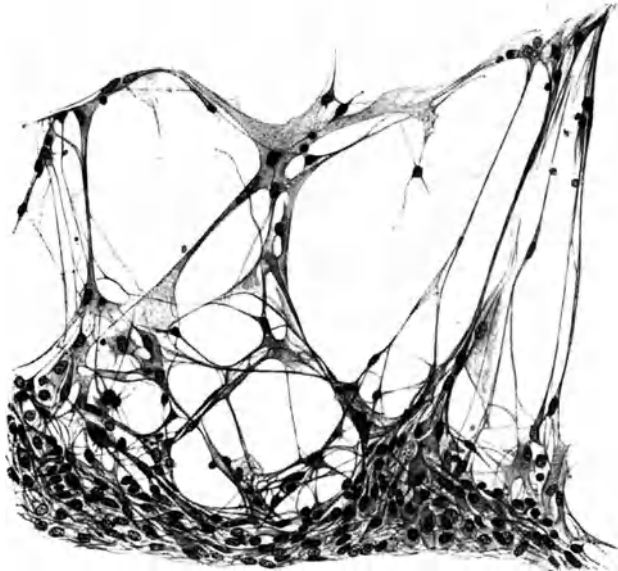


Abb. 22. Randpartie einer Neuroepithelmembran, die wieder beginnende nervöse Differenzierung, langsam einsetzend, zeigt. Zenker, Held. Gezeichnet von B. Neresheimer, München.

Mitteln wie Zug und Druck zu erfassen wäre. Es ist eine Besonderheit des Zentralnervengewebes, daß es zu Protoplasmaverschiebungen auf große Entfernungen befähigt ist. Dieses geschieht in erster Linie infolge einer „vis a tergo“ vom Zentralorgan aus. Daß dabei noch andere sekundäre Faktoren mitwirken, ist durch HELD nachgewiesen worden (Leitstrukturen). — Ich möchte deshalb der passiven Dehnung nicht die allgemeine Bedeutung beimessen, wie das G. LEVI und OLIVO zu tun geneigt sind.

Die in dem ursprünglich kernfreien Gitter auftretenden Elemente lassen sich in drei Gruppen sondern: primäre und sekundäre Neuroblasten und Glioneurozyten (Abb. 21—24). Die primären Neuroblasten sind noch ganz undifferenzierte, dunkelplasmatische Elemente mit einem Fortsatz, welcher aus einem relativ großen, *birnförmigen oder ovalen*

Plasmaleib entspringt (Abb. 19). Das Protoplasma ist homogen ohne Granula oder Vakuolen und läßt bei Lebendbeobachtung mitunter feine Streifen erkennen, die als Neurofibrillen zu deuten sind (s. auch H. MEYER). Die sekundären Neuroblasten sind schon bipolar oder multipolar differenziert (Abb. 21). Die Glioneurozyten sind epitheliale Gebilde mit hellerem Plasmaleib ohne typische Fortsätze, kontinuierlich mit den ersteren Elementen verbunden (Abb. 21 und 22). Multipolare Elemente sind am Anfang selten, sie finden sich auch niemals in solcher Anzahl wie die primären Neuroblasten. Die Abb. 19—24 geben die Verhältnisse anschaulich wieder. Eine progressive Differenzierung von multipolaren Elementen aus primären Neuroblasten in der Wachstumszone ist möglich. Es handelt sich bei diesem Auswachsen nicht um eine Aktion einzelner Zellindividuen, sondern im Rahmen eines kontinuierlichen Ganzen finden Verschiebungen von Kernplasmakomplexen statt, die bereits im Mutterstück in dem jetzt viel weitmaschigeren nervösen Gitterwerk kontinuierlich verankert waren. Diese Verschiebung ist eine sehr langsame, die Latenzzeit eine viel größere als bei den übrigen Kulturen. Der Vorgang ist prinzipiell anders als in Fibroblastenkulturen.

Es handelt sich also nicht um ein einfaches, zelluläres Wachstum, sondern um *Wachstum eines Gitters, in welchem Kernplasmakomplexe als besonders auffällige Gebilde und Reaktionszentren zu finden sind*. Mitosen finde ich in primären wie sekundären Neuroblasten *niemals*, wohl aber in den Glioneurozyten. G. LEVI und H. MEYER beschreiben eine besondere Form der Mitose in „mit vielfachen Fortsätzen versehenen Nervenzellen“. Der Prozeß spielt sich in typischer Weise ab und rascher als in Fibroblasten. Während der Telophase werden nicht amöboide Sprosse ausgesendet. In der Prophase ziehen die Elemente ihre nervösen Fortsätze *nicht* ein, wie das sonst gewöhnlich der Fall ist. Nach der Äquatorialteilung bleiben die beiden Tochterzellen durch eine Protoplasmabrücke miteinander verbunden, „die infolge des raschen Auseinandergehens der beiden Zellen sich sehr verdünnt und den Charakter einer Nervenfasers annimmt“ (G. LEVI). Die Nervenfortsätze setzen dann ihr Wachstum wie gewöhnlich wieder fort infolge einer amöboiden Bewegung, der Endexpansion. Ich kann das nicht bestätigen. Auch MARTINOVITCH hat Mitosen in Nerven-elementen beschrieben, die sich 2—3 Wochen lang fortsetzen sollen. Für diese Befunde kann ich, wie gesagt, keine Belege erbringen. *Nach meinen Beobachtungen sind es, wie gesagt, keine Neuroblasten, die sich vermehren in vitro, sondern die indifferenten Glioneurozyten, die noch keinen spezifischen Charakter haben.*

Die besondere Form der in den Glioneurozyten zu findenden Mitosen ist als „heteroplastisch“ zu bezeichnen. Darunter ist zu verstehen die Tatsache, daß aus ursprünglich einfach gebauten Glioneurozyten durch indirekte Teilung glioblastische und neuroblastische Elemente sich entwickeln, Elemente, die neue Eigenschaften besitzen, welche in

den Mutterzellen noch nicht sichtbar enthalten waren (s. K. BAUER 1938). Damit ist zugleich das Wesen der histogenetischen Differenzierung in kurzen Worten gekennzeichnet. Die Teilungsprodukte der Glioneurozyten haben ein dunkler färbbares Zytoplasma, jetzt Neuroplasma bzw.

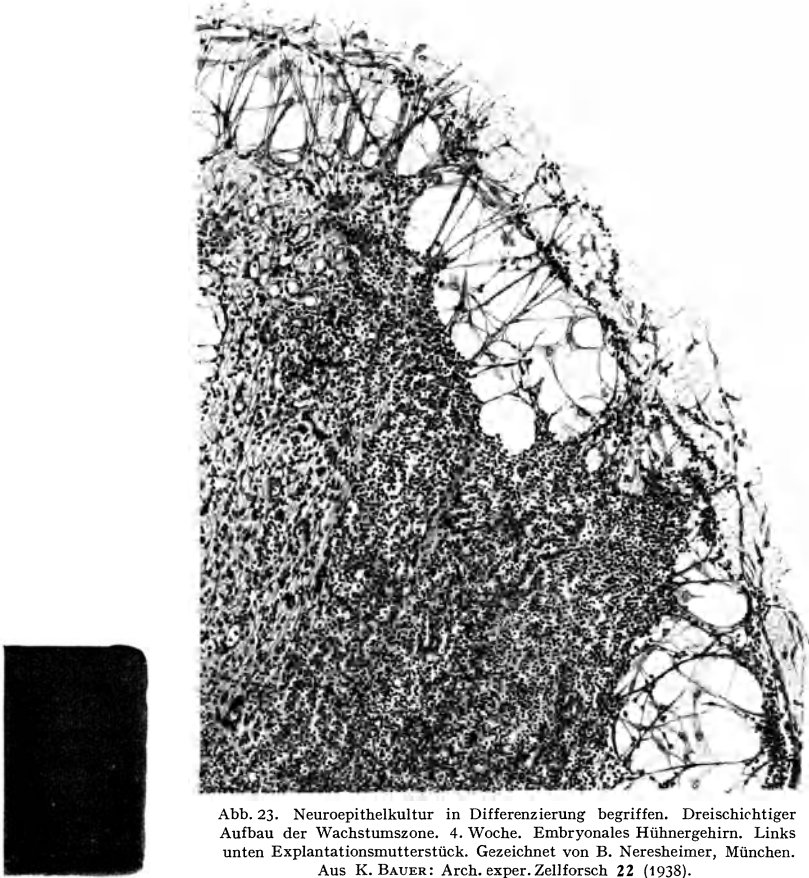


Abb. 23. Neuroepithelkultur in Differenzierung begriffen. Dreischichtiger Aufbau der Wachstumszone. 4. Woche. Embryonales Hühnergehirn. Links unten Explantationsmutterstück. Gezeichnet von B. Neresheimer, München. Aus K. BAUER: Arch. exper. Zellforsch 22 (1938).

Glioplasma, mit allen sich daraus ergebenden Konsequenzen wie Neuroretikulum, einen langen Hauptfortsatz und eine birnförmige Gestalt. Es scheint, als ob die zu Beginn der Mitose zu findende Protoplasma-veränderung, die sich in der stärkeren Lichtbrechung zu erkennen gibt, nicht wieder verschwindet, die Plasmaleiber sich nicht wieder in gewöhnlicher Weise ausbreiten zu flachen epithelialen Elementen, sondern eine absolut neue Form annehmen und behalten.

Mit der zunehmenden Differenzierung der sekundären Neuroblasten ist eine Volumenzunahme verbunden, entsprechend der zunehmenden Zahl

der abgehenden nervösen Fortsätze. Ich habe 1936 darauf hingewiesen, daß das eine auffällige Tatsache sei, die dem von PIERRET und CAJAL aufgestellten Gesetz entspreche, wonach die Dimensionen eines nervösen Elementes der Zahl seiner Verzweigungen und der Länge seines Axons proportional sind. Von LEVI und H. MEYER ist dann in einer besonderen Arbeit ebenfalls auf diese Tatsache eingegangen worden.

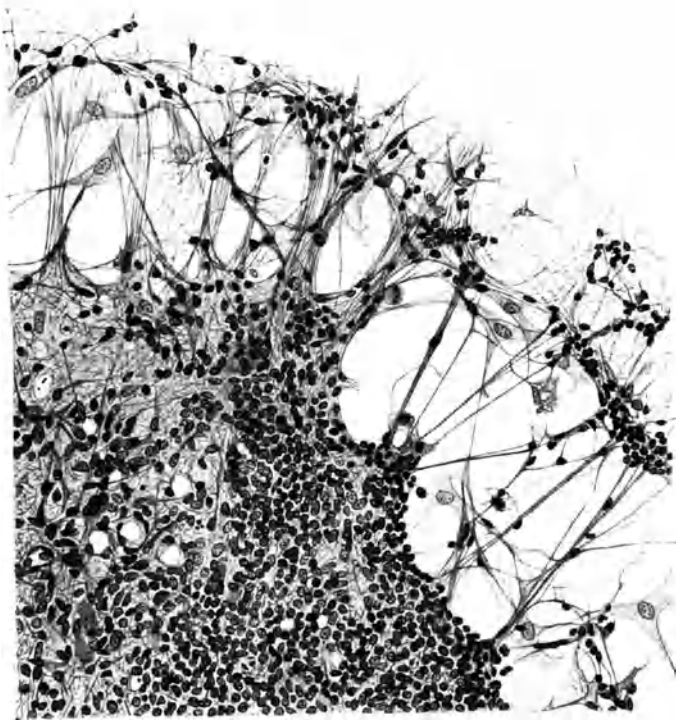


Abb. 24. Stärker vergrößerter Abschnitt der in Abb. 23 dargestellten Kultur. Zwei unterschiedlich dargestellte Elemente: Dunkelkernige und dunkelplasmatische Formen, daneben große helle epitheliale Elemente, die ursprünglich allein da waren. Nervenfasern, radiär aussprossend. In der Peripherie vorwiegend sekundäre und primäre Neuroblasten mit langen neuritischen Fortsätzen, die nur teilweise eingezeichnet sind. Aus K. BAUER: Arch. exper. Zellforsch. 22 (1938).

Die kernhaltigen nervösen Gitter können entweder nur Neuroblasten enthalten ohne epitheliale Glioneurozyten oder auch beide Formen. Dann ist das Bild der Wachstumszone außerordentlich typisch. Wir finden nach Anwendung der Molybdänhämatoxylinmethode eine sehr klare Dissoziation in zwei hauptsächlichliche Protoplasmaarten: dunkelgefärbte Kernplasmakomplexe und heller gefärbte Elemente epithelialer Natur. Die dunkelgefärbten sind die verschiedenen, primären und sekundären Neuroblastenformen mit ihren Fortsätzen. Die helleren die noch indifferenten Glioneurozyten. Das ist eine sehr auffällige Strukturierung der

Wachstumszone, die man sonst nirgends bei den verschiedenen gezüchteten Geweben vorfinden kann (Abb. 21—24). Es ist mit Sicherheit auszuschließen, daß etwa die helleren Elemente aus entdifferenzierten Neuroblasten sich gebildet haben. Eine Entdifferenzierung in diesem Sinne gibt es, meinen Beobachtungen *in vitro* nach zu schließen, sicherlich

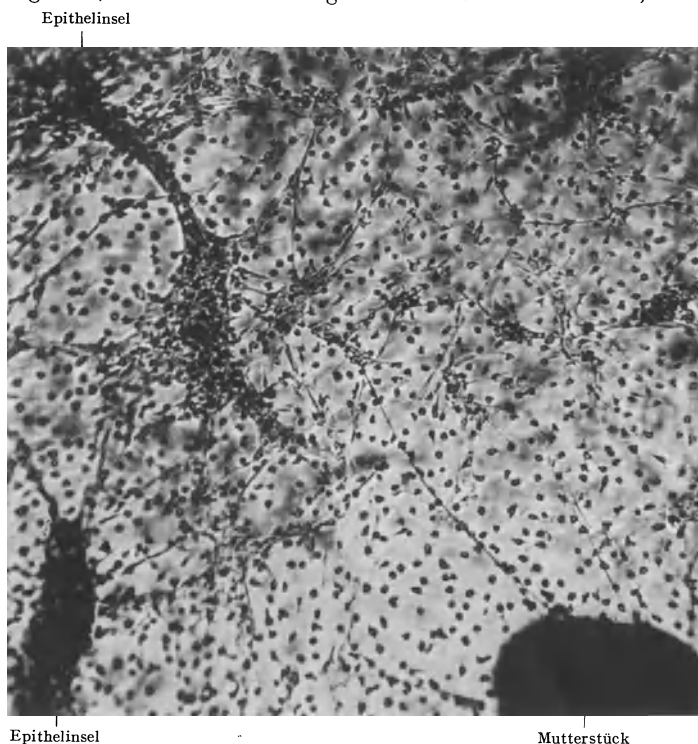


Abb. 25. Nervenkultur 10 Tage post explantationem. Gesteigerte Rundzellbildung, mobilisierte Gliazellen. Dazwischen liegen vereinzelte, sich verzweigende, Nervenfasern und Neuroepithelinseln. Große Ausdehnung der Wachstumszone, die nur teilweise in ihrer Größe dargestellt ist. Flaschenkultur, nicht umgesetzt. Lebendphotographie. Aus K. BAUER: Roux' Arch. 138 (1938).

nicht. Die Auffassung KAPELS, der eine Entdifferenzierung von Ganglienelementen beschreibt, ist abzulehnen. MARTINOVITCH gibt an, Übergangsformen von typischen Ganglienelementen zu fibroblastenähnlichen Zellen gesehen zu haben. Der Autor gibt eine gewisse Entdifferenzierung zu, obwohl er sich in dieser Hinsicht nicht sehr entschieden äußert. Nach G. LEVI ändern die typischen birnförmigen Neuroblasten ihre Gestalt in eine lamellenförmige, sie platten sich auf der Oberfläche des Deckglases ab, und „es entstehen dadurch abenteuerliche Bildungen“ (LEVI). Trotzdem bewahren sie ihre feinen Fortsätze, die sich infolge ihrer starken Lichtbrechung als nervös erweisen. Auch LEVI lehnt mit OLIVO eine Entdifferenzierung der Neuroblasten ab. Vielleicht handelt es sich bei

den von KAPEL und auch den von MARTINOVITCH beschriebenen Befunden um Degenerationsgranula im Neuroplasma. Nach H. MEYER werden in Passagenkulturen die Ganglienelemente aus dem Rautenhirn stark abgeplattet. Nach G. LEVI jedoch ist eine gewisse Abplattung der Ganglienzelleiber mit dem Bestehenbleiben der spezifischen morphologischen und biologischen Merkmale der im Wachstum begriffenen Elemente vereinbar.

Eine progressive Differenzierung der sekundären Neuroblasten ist sicherlich vorhanden *in vitro*, aber sie ist relativ selten. Ich finde in Kulturen unter den primären und sekundären Neuroblasten nur vereinzelte, welche als ausgereifte multipolare Formen anzusprechen wären. Die dendritischen und neuritischen Fortsätze der betreffenden Elemente, die im allgemeinen nicht isoliert liegen, sondern im Gitter mitten drinnen, sind ein Stück weit zu verfolgen und gehen dann in dem umgebenden nervösen Netzwerk auf. Es sind sternförmige Bildungen mit Dendriten, welche mit breiter Basis aus dem Zelleib entspringen, sich rasch verzweigen und aufzweigen (Abb. 21—23). Sie sind auffallende Bestandteile des nervösen Gitters.

Eine besondere Formation *in vitro* sind die reihenartig angeordneten Elemente (Abb. 28 und 29) entlang nervöser, vielfach isoliert verlaufender Fasern oder Faserbündel. Drei bis fünf oder mehr Elemente, lang gestreckt und ohne Fortsätze liegen eng an der primitiven Nervenbahn an und schließen dieselbe in ihrem Protoplasma ein. So entstehen sekundäre Gebilde. Es handelt sich hier um eine so auffällige Ähnlichkeit mit den entsprechenden Prozessen bei den histogenetischen Phänomenen *in situ*, daß der Vergleich mit dem Verhalten der HELDschen Leitzellen, welche bekanntlich glöser Natur sind und den anfangs kernfreien Nervenbahnen nachwachsen, sich aufdrängt. Die Ursache dieses besonderen Verhaltens *in vitro* ist noch nicht genauer aufgeklärt und liegt möglicherweise in den Verhältnissen des Mutterstückes begründet. Darüber fehlen zur Zeit noch exakte Kenntnisse. Sicherlich beteiligen sich diese sekundären Leitzellen auch *in vitro* nicht an der Nervenbildung, sondern haben nur nutritive oder richtungweisende Funktionen. Sie müssen als glöse Elemente angesehen werden. Die Auffassung, daß solche Elemente *in situ* an der Nervenbildung direkt durch Erzeugung nervöser Substanzen beteiligt sind, wie es SPIELMEYER im Anschluß an die Kettentheorie von APATHY und BETHE annimmt, ist nicht haltbar. Eine Differenzierung „*in loco*“, wie die polygenistische Schule annimmt, gibt es nach HELD nicht. Daß eine neurogene Substanz von den Bildungselementen ausgeht und weitgehende Wirkungen entfalten muß, das zeigen deutlich die primären, kernfreien Nervenbahnen in der Kultur. *In situ* wird man nicht so lange kernfreie Nervenstrecken finden, und deshalb läßt sich gerade diese Frage der Differenzierung „*in loco*“ mit diesen Befunden gut erklären. Die primären kernfreien Nervenbahnen können bis zu 3000 μ lang werden und noch darüber, wenn man die

vielen Biegungen mit berücksichtigt. Wenn das alles von den Hisschen Neuroblasten geleistet wird, dann ist kein Grund dafür anzugeben, warum das in situ nicht auch der Fall sein sollte. Die Funktion der Leit-zellen gliöser Natur sehen wir also in erster Linie in der Ernährung der

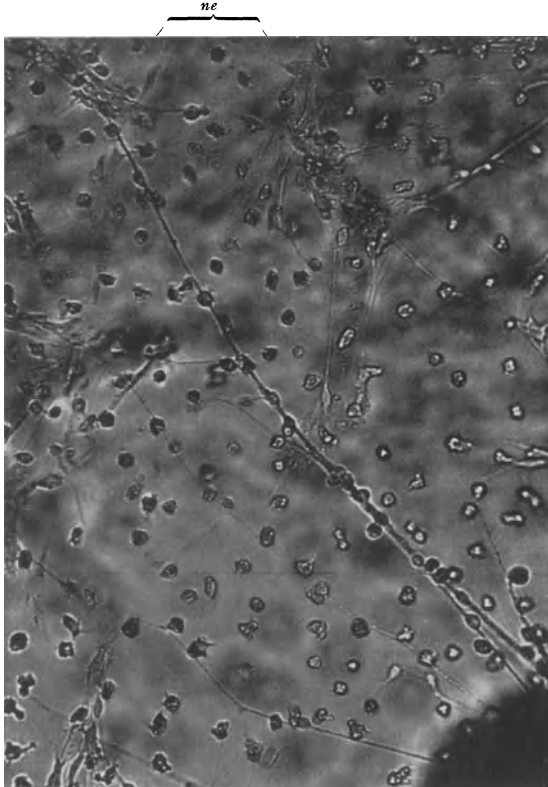
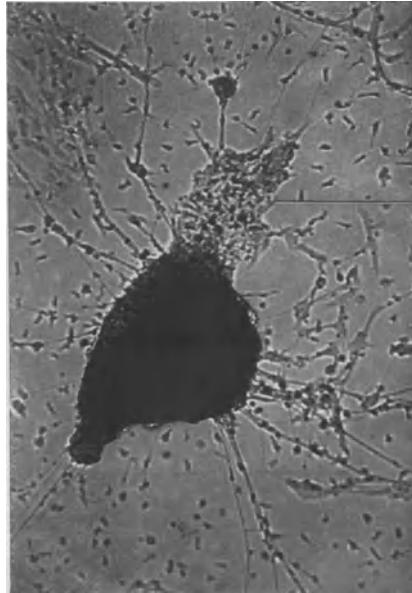


Abb. 26. Stärker vergrößerter Abschnitt aus der Abb. 25. Anastomosierende Nervenstrukturen, gliöse Rundzellen, zwei kleine Neuroepithelinseln rechts oben (ne).

langen Nervenfasern und — in situ vor allem — in der Richtungs-determina-tion. Dabei wirken aber noch andere Faktoren mit (epitheliales Binde-gewebe als primär kontinuierliche Verbindung zwischen Zentralorgan und Erfolgsorgan), die in vitro wegfallen.

Die Frage der Beteiligung der Glia an der Bildung der nervösen Gitter der 2. Phase ist dahingehend zu beantworten, daß sie mit Sicherheit anzunehmen ist. Das wissen wir erstens aus den ausgedehnten Unter-suchungen von HELD über die nervösen Grundnetze, und zum anderen ist auf Grund der Befunde in den Kulturen eine Differenzierung von Glioblasten aus den Glioneurozyten nicht von der Hand zu weisen; wenn es auch mitunter schwierig ist, eine embryonale Gliazelle von einem

primären Neuroblasten in vitro immer mit Sicherheit zu unterscheiden. Je jünger das betreffende Stadium in vitro, um so schwerer wird die Differentialdiagnose. Solange wir nicht über die Möglichkeit verfügen, das Glioplasma vom Neuroplasma histochemisch zu unterscheiden, wird eine exakte Bestimmung immer auf Schwierigkeiten stoßen. Das gilt in erster Linie für die Verhältnisse in der Kultur. In situ ist das freilich anders, sobald sich die typischen gliösen Formationen und Anordnungen (Membr. limit. gliae perivascularis et superficialis) herausgebildet haben. HELD hat den Begriff des „Glioneurozyten“ geschaffen und versteht darunter die gemeinsame Ausgangsform beider später so verschiedenwertigen Elemente. Die These RIO HORTEGAs von der mesenchymalen Natur der Mikroglia ist ganz unbegründet und unhaltbar. Sie steht in krassem Widerspruch zu den Ergebnissen der Histogenese (HELD). Diese Glioneurozyten sind ursprünglich rein epitheliale Elemente des ektodermalen Medullarrohres, die sich zu differenzieren beginnen, wenn einige Zeit verstrichen ist. Sie liegen auch immer mehr oder weniger zahlreich in der 2. Phase in der Wachstumszone. Sie sind diejenigen Elemente, welche als einzige meinen Untersuchungen nach Mitosen eingehen. Sie beherrschen später in der sogenannten 3. Phase das Bild ganz.



Neuroepithel

Abb. 27.

In der 3. Phase des Nervenwachstums in vitro treten epitheliale Membranen auf von verschieden großer Ausdehnung (Abb. 27). Sie stellen gewissermaßen das Endresultat der Nervenzüchtung dar und wachsen zeitlich unbegrenzt wie die unsterblichen Fibroblastenkulturen. Diese Membranen bestehen aus eng aneinandergelagerten, etwa kubischen Elementen und haben den für Epithelkulturen typischen, einfachen Wachstumsgrad, der in gewisser Distanz vom Mutterstück verläuft. Die Ausdehnung solcher Membranen schwankt gewöhnlich von 50—3000 μ . Sie können also beträchtliche Dimensionen erreichen. Im allgemeinen vermehren sich die Elemente mitotisch. Amitosen konnten bisher nicht mit Sicherheit nachgewiesen werden. Diese Membranen entfalten häufig stark verflüssigende Eigenschaften in plasmahaltigen Nährböden. Hand in Hand mit dieser Verflüssigung geht immer relativ starke Rundzellbildung.

Diese Rundzellen, die amöboide Fähigkeiten besitzen, entstehen ohne Zweifel durch Umwandlung aus den Epithelien. Die betreffenden Vorgänge sind eingehender beschrieben worden (K. BAUER 1938). Es ergab sich, daß eine kausale Beziehung bestehen muß zwischen Auftreten der Rundzellen und Beginn der Nährbodenverflüssigung. Ähnliches gilt bekanntlich auch für analoge Erscheinungen in anderen explantierten Geweben (Fibroblastenkulturen). Die Erscheinungen fehlen, wenn man in Durchströmungsflaschen nach CARREL-LINDBERGH Gewebefragmente züchtet.

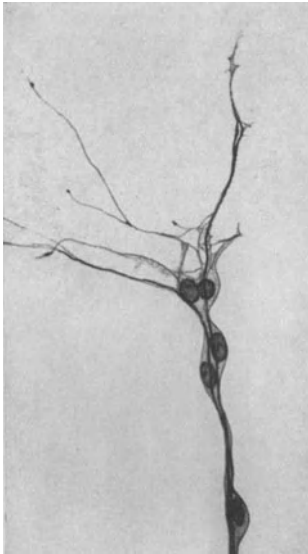


Abb. 28.

Offenbar werden dabei die die Verflüssigung bedingenden Stoffe so hochgradig verdünnt, daß sie nicht wirksam werden. Wir betrachten diese amöboiden Wanderzellen, die aus den epithelialen Membranen 4—5 Wochen oder noch später aufzutreten pflegen, als eine Art mobilisierter Gliaelemente. Damit wäre zunächst eine wichtige Funktion der neuroepithelialen Membranen in vitro gekennzeichnet, die Bildung gliöser Rundzellen (s. Abb. 25 und 26).

Eine weitere sehr wesentliche Eigenschaft der betreffenden Membranen besteht in der Fähigkeit zu nervöser Differenzierung (Abb. 22). Dieser Prozeß, den man als 4. Phase des Nervenwachstums in vitro bezeichnen könnte, verläuft derart, daß an der ursprünglich so einfach gebauten Randzone der epithelialen Membran plötzlich wieder lange nervöse Fortsätze auswachsen und ein Gitter bilden (Abb. 27) oder aber auch nur in größeren Bündeln ein Stück

weit wachsen. Es tritt wieder die typische, in der 2. Phase des Wachstums besonders deutliche Unterschiedlichkeit zwischen zwei besonderen Zellelementen auf: kleine, dunkelplasmatische primäre Neuroblasten, birnförmig gestaltet mit einem langen Fortsatz, und größere helle Elemente beherrschen in diesen Teilen der Kultur das Feld. Die primären Neuroblasten senden ihre Neuriten in das Medium hinein und können auf diese Weise wieder ein primäres, kernfreies Gitter nun weit außerhalb des Mutterstückes und peripherwärts der Epithelmembran zustande bringen. Schließlich kommt es in der Membran selbst zu herdförmigen nervösen Umwandlungsprozessen. Diese Periode der nervösen Differenzierung aus neuroepithelialen Membranen in der Wachstumszone ist, das ist ihr wesentliches Kriterium, ein relativ kurzdauernder Vorgang, der spontan eintritt und dessen Ursachen noch nicht genauer zu analysieren sind. Nach einigen Tagen schon überwuchern die epithelialen Membranen und beherrschen das Bild wieder. Es sind andauernde Eingriffe und

Sondermaßnahmen erforderlich, um diese Strukturen zu erhalten. Wir haben mit relativem Erfolg die von BAKER angegebenen künstlichen Nährböden (s. S. 463 f.) in Verdünnung mit Tyrodelösung zu gleichen Teilen angewandt, ferner Waschungen mit Thyroxin-Heparinplasmagemischen für kurze Zeit. Einige Stunden langes Einwirken von BAKERS Medium, mit Tyrodelösung verdünnt, hat eindeutige Effekte ergeben. Diese Beobachtungen sind an einem Stamm erhoben worden, der aus dem

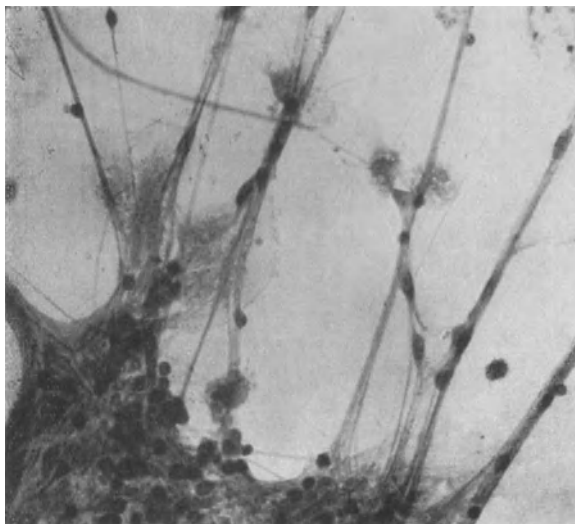


Abb. 29.

Gehirn eines 10 Tage alten Hühnerembryos gezogen wurde und diese Phänomene zeigte (s. K. BAUER 1938).

Die Entstehung der epithelialen Membranen in den Gehirnkulturen ist kein „Entdifferenzierungsprozeß“ in dem Sinne, daß aus den kernhaltigen Teilen des nervösen Gitters der 2. Phase diese Epithelien sich bildeten. Vielmehr wachsen die betreffenden Gewebe neu aus dem Mutterstück aus, stammen also von noch undifferenzierten Elementen der ehemals ektodermalen Medullarrohranlage und sind als Glioneurozyten epithelialer Natur oder als ein echtes Neuroepithel mit allen immanenten Potenzen aufzufassen. Diese Epithelbildungen überwuchern schließlich das Ganze und bedingen so den Regreß der Elemente der 2. Phase.

Nach VERNE (1930) ist das Neuroepithel in vitro die stabile Form der Neuroglia. „La structure névroglieuse de cet épithélium est prouvée par sa capacité d'élaborer des fibres gliales“ (VERNE). Die von dem Autor in seiner Abb. 7 und 8 dargestellten Strukturen habe ich bisher noch nicht mit Sicherheit beobachten können. Es mag sein, daß überwiegende neurogliabildende Potenzen sich zu entfalten vermögen. Aber ebenso

sicher ist auch die neuroblastische Potenz dieses Neuroepithels erhalten sowie seine Fähigkeit, Rundzellen zu bilden.

Die drei beschriebenen Phasen des Wachstums explantierter Gehirnfragmente sind von verschiedener zeitlicher Dauer. Es erübrigt sich, genauere Daten dafür anzugeben, da die spezielle Nährbodenzusammensetzung und die innere Struktur des Mutterstückes maßgebliche Faktoren sind, die noch nicht in allen Punkten restlos erfaßt werden konnten. Sicher ist das eine: die Deckglasmethode mit der notwendigen Umsetzung ist ungeeignet und liefert falsche Bilder des periodischen Wachstums in-

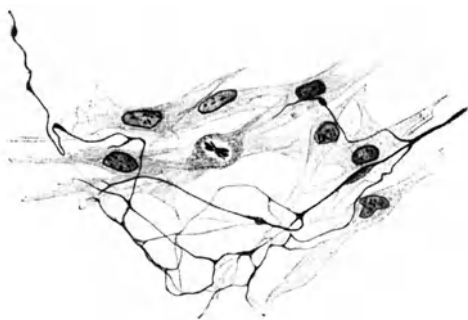


Abb. 30. Kultur aus dem Darm eines 8 Tage alten Hühnerembryos. Epithelien, Fibroblasten und eine sympathische Nervenfasern, die sich plexusartig aufzweigt. Intime Beziehungen zwischen den Teilen. 3 Tage post explantationem. Zenker, Held.

sofern, als beim ersten Umsetzen bereits zelluläre Phänomene einsetzen, wenn sie bis dahin ausgeblieben sind. Das ist eine gesetzmäßige Reaktion; ganz anders in der Flaschenkultur. Treten hier primäre, kernfreie Nervenbahnen auf, so lassen sie sich etwas länger halten, wenn man den Nährboden entsprechend behandelt. Embryonale Extrakt mit Plasma ist wohl imstande,

eine gutgewachsene und relativ ausgedehnte nervöse Zone zustande zu bringen, besonders wenn man auf der Oberfläche züchtet. Sie wird aber nicht alt, und bald treten unangenehme Verflüssigungen ein, die deshalb so lästig werden, weil man unweigerlich bei der mikroskopischen Untersuchung der lebenden Kultur in der Flasche infolge der Bewegung der Flüssigkeit die feinen Nervenfasern zerreißt. Besser ist es, den Embryonalextrakt zu reduzieren auf wenige Prozent, den Nährboden hart zu machen und mit Serum zu züchten. Außerdem sind die Behandlungen mit BAKERS Medium und mit Thyroxin-Heparinplasmagemischen sehr zu empfehlen. Auf diese Weise kann man einige Tage lang die Zellulation zurückhalten und reine, kernfreie Nervenbahnen erzielen. Die Zellulation, die an sich schon eine größere Latenzzeit voraussetzt als bei anderen Geweben, setzt langsam ein, spätestens am 5. oder 6. Tage. Der Übergang von der 2. zur 3. Phase ist nicht so scharf abzugrenzen, weil langsam die epithelialen Glioneurozyten mit auswachsen und allmählich erst das Feld beherrschen.

Merkwürdigerweise hat man auf Grund der Ergebnisse der Nervenzüchtungsforschung nur vereinzelt zu den Hauptfragen der Nervenhistologie Stellung genommen, die durch den Gegensatz: Neuronentheorie — Neurenzytiumtheorie gekennzeichnet sind. Wie stehen die Ergebnisse der Züchtungsforschung zu diesen Theorien, die aus den

Ergebnissen der Histogenese aufgebaut worden sind (W. HIS und H. HELD)?

Die meisten Autoren haben Anastomosen in vitro beobachtet, aber sich gescheut, die daraus sich ergebenden Konsequenzen zu ziehen (G. LEVI, SCANTROCH, OLIVO, MOSSA, MARTINOVITCH, ESAKI, VERNE, LAWRENTJEFF-GRIGORJEFF, H. MEYER); sie reden weiterhin von Neuronen. Auf die Notwendigkeit einer exakten, nomenklatorischen Regelung in dieser Frage hat F. NISSL in ausführlichen Schriften hingewiesen. G. LEVI faßt seine hauptsächlichsten Ergebnisse und Schlußfolgerungen dahingehend zusammen, daß „die Neuronenindividualität fast vollständig verschwinden kann in vitro“. In den ersten Differenzierungsphasen stellen die Neurone unabhängige Zelleinheiten dar, deren lange Fortsätze nach LEVI isoliert bleiben sollen. Die Anastomosen treten nach G. LEVI erst später auf. Im allgemeinen sieht man in den ersten Stunden nach der Explantation oft frei auswachsende Nervenfortsätze, worauf schon hingewiesen wurde. Doch sehe ich das nur, solange dieselben sehr kurz sind. Isolierte, morphologisch selbständige Neuroneneinheiten habe ich in gut wachsenden Kulturen, die keinen Regreß zeigen, niemals gesehen. Wenn aber Kulturen degenerieren oder künstlich dazu gebracht werden durch besondere Einwirkungen, dann tritt allgemeiner Zerfall, Segmentation usw. ein, und es lassen sich sehr gut aus den Bruchstücken „Neurone“ diagnostizieren. In einem dichten, nervösen Gitter jedoch von neuronalen Einheiten sprechen zu wollen und dieselben abzugrenzen, ist eine Unmöglichkeit, die selbst v. MIHÁLIK mißlang gelegentlich unserer Diskussion über diesen Gegenstand in LEVI's Laboratorium in Turin (1936). Die indifferenten Glioneurozyten bilden schon von Anfang ihres Auftretens an ein gut zu erkennendes Kontinuum. Isolierte Einheiten gibt es nicht, nur auffällige dunkler gefärbte Kernplasmakomplexe in einem kontinuierlichen Gitter, besonders große Knotenpunkte, kernhaltige Anastomosen, wenn man will. Das sind Bezeichnungen, die der morphologischen Situation immer noch eher gerecht werden als die Begriffe „Neuron“ oder „Zellindividuum“, deren Anwendung bei den beschriebenen Strukturen unberechtigt ist, wie jeder unvoreingenommene Blick auf eine solche Kultur in der 2. Phase erkennen läßt.

Ein Teil der in der Wachstumszone vorhandenen Anastomosen sind sicherlich primärer Natur, d. h. sie waren schon im Mutterstück vorhanden, sind also präexistent, wie LEVI sich ausdrückt. G. LEVI ist dagegen geneigt, die Anastomosen der Spinalganglien immer für sekundärer Natur zu halten. Sicher erscheint mir, daß bereits in dem Mutterstück vorhandene Anastomosen durch weiteres Wachstum immer komplizierter werden können, sich zu dreidimensionalen Gittern umzubilden vermögen, die in die Wachstumszone zu liegen kommen. Protoplasmabewegung ist auch hier der im wesentlichen zugrunde liegende Vorgang, der dem Nervengewebe allgemein eigentümlich ist. Diese Protoplasmabewegung beschränkt sich also nicht nur auf Bezirke in der unmittelbaren Nähe

der Kerne, sondern, und das ist gerade typisch für die Nervengewebe, *es kommt zu Protoplasmaverschiebungen auf sehr große Entfernungen.*

Reinkulturen von Neurogliegewebe sind beschrieben worden von VERNE (1930). Nach meinen Erfahrungen lassen sich in Deckglaskulturen, die ständig in kurzen Intervallen umgesetzt werden, massenhaft Rundzellen züchten, welche amöboid sind, wie das auch COSTERO beschrieben hat (1930). COSTERO hält jedoch diese Elemente für Mikroglia im Sinne HORTEGAs. Das ist eine unhaltbare Vorstellung, denn aus Neuroepithelmembranen, die wochenlang in Reinkultur gewachsen waren, lassen sich dieselben amöboiden Rundzellen wieder züchten, und hier sind sie sicherlich keine mesenchymatischen Elemente, sondern ihre epitheliale Natur läßt sich sehr klar nachweisen. Ich halte diese Elemente wie auch die von COSTERO beschriebenen Formen für mobilisierte Gliaelemente. Keinerlei Anhaltspunkte sind dafür vorhanden, daß es eine mesenchymatische Glia gibt. Nach COSTERO sollen diese amöboiden Rundzellen untereinander anastomosieren, allerdings vorübergehend. Daß sich epitheliale Membranen aus solchen Mikrogliazellen — man sollte sie besser nach HELD „protoplasmakleine“ Gliazellen nennen — wieder bilden können, habe ich noch nicht beobachtet. Die Neuroepithelien stammen aus den tiefen Schichten des Explantatmutterstückes und formen sich nicht erst aus Rundzellen in der Wachstumszone. VERNE und v. MIHÁLIK haben ebenfalls das Verhalten der Neuroglia untersucht, desgl. CARMICHAEL (1930). VERNE nimmt ebenfalls an, daß das Epithel der 3. Phase aus Neuroglia gebildet werde. Der Autor beschreibt Gliafaserbildung im Epithel. Die Neuroepithelien der 3. Phase sind echte Glioneurozyten im Sinne HELDs, deren immanente Potenzen sich wieder realisieren lassen. Sie sind den ehemals ektodermalen Medullarrohrelementen an die Seite zu stellen und können neuroblastische und glioblastische Elemente durch indirekte Teilung zustande bringen (heteroplastische Mitose). Die Glioblasten sind, wenn sie allein und isoliert auftreten, meist in starker amöboider Tätigkeit und zeigen keine Neigung zur Bildung fester Gewebeverbände. Sie beteiligen sich aber zweifellos an der Netzbildung durch kontinuierliche Verbindungen ihrer Fortsätze mit diesem. Sie sind etwas kleiner als die primären Neuroblasten und weisen weder die typische birnförmige Gestalt noch die charakteristischen Fortsätze auf.

e) Wachstum isolierter Elemente (Zellkolonien), die keine Neigung zur Bildung fester Gewebeverbände zeigen (Blutzellen, lymphatische und myeloische Gewebe am Anfang der Explantation).

Keine Neigung zur Bildung fester Gewebe zeigen die explantierten Blutzellen, die von CARREL und EBELING zuerst 3 Monate lang gezüchtet werden konnten. Dabei wurde die wichtige Feststellung gemacht, daß Leukozyten, die in serumhaltigen Nährböden gezüchtet waren, wachstumsfördernde Substanzen für Fibroblasten zu bilden vermochten (Trephone). Die Wanderung ist nach W. H. LEWIS etwas langsamer als die der

Fibroblasten. Unter gewissen Bedingungen verwandeln sich die großen mononukleären Elemente in fibroblastenähnliche Zellen. Das haben AWROROW und TIMOFEJEWSKIJ (1914) beschrieben, ferner CARREL und EBELING, A. FISCHER, HIRSCHFELD, BENEWOLENSKAJA. LEWIS gibt jedoch an, daß es sich hierbei lediglich um *vorübergehende Formänderungen* und wohl nicht um Verwandlung in einen neuen, fibroblastischen Zelltypus handele.

Die explantierten Blutelemente verhalten sich nicht alle gleichmäßig in der Kultur. Die Erythrozyten, die Thrombozyten und die Granulozyten gehen kurz nach der Explantation zugrunde, und es bleiben nur die Monozyten längere Zeit in vitro am Leben. Nach CARREL und EBELING (1922) sieht man etwa 20 Stunden nach erfolgter Explantation einen Hof ausgewanderter Zellen, die verschieden geschichtet sind: In der peripheren Schicht liegen die Granulozyten, die also am raschesten und am weitesten vorgedrungen sind, dann folgen die Monozyten, und die Lymphozyten liegen am nächsten dem Mutterstücke. Zuerst sollen die Granulozyten verschwinden, dann die Lymphozyten. Die Monozyten dagegen bleiben übrig und bilden auf diese Weise eine Reinkultur. Sie teilen sich mitotisch, treten in keine engeren Beziehungen untereinander, bleiben also isolierte Individuen. Die Zellen können mannigfaltige Formänderungen zeigen, hervorgerufen durch die amöboide Tätigkeit, sie strecken sich, werden etwas spindelig, und zeigen amöboide Fortsätze.

Ein weiteres interessantes Faktum ist die Tatsache, daß die Monozyten eine erhöhte Empfindlichkeit gegenüber dem Embryonalextrakt aufweisen und bei konzentrierten Gaben dieser Substanz zugrunde gehen (CARREL). Nach CARREL besteht kein wesentlicher Unterschied zwischen Blutmonozyten und Bindegewebsmakrophagen. Hinsichtlich ihrer Größe, ihres Verhaltens gegenüber Neutralrot, ihrer Form (undulierende Membran) und dem Mitochondriengehalt ihres Plasmaleibes zeigen sie weitgehende Übereinstimmung. Monozyten und Makrophagen seien zwei verschiedene Funktionsstadien ein und derselben Zelle. Die undulierende Membran funktioniert wie ein feiner Randschleier. Die Bewegungsart der Lymphozyten dagegen ist eine andere mittels Pseudopodien. Nach W. H. LEWIS und M. R. LEWIS sind die Monozyten, die Klasmatozyten und die epitheloiden Zellen nicht drei verschiedenwertige Elemente, sondern als zusammengehörig aufzufassen. Damit stehen die genannten Forscher im Gegensatz zu F. SABIN, DEAN und CUNNINGHAM, welche die betreffenden Zellformen scharf auseinanderhalten.

Auch MAXIMOW weist auf die rasche Rückbildung der Granulozyten in vitro hin und die viel größere Vitalität der Lymphozyten und Monozyten. Der Autor nimmt entsprechend seiner Polyblastenlehre eine Art Pluripotenz der kleinen Lymphozyten an. Eine Verwandlung von Makrophagen oder Monozyten in fibroblastische Zellen ist beschrieben worden auch von A. FISCHER, CARREL, MAXIMOW, CAFFIER, VERATTI, HIRSCHFELD und HAAGEN. Doch geschieht das nur in kleinen Ausmaßen, und

außerdem liegt eine gewisse Tendenz zum Ausbreiten vor, die, worauf G. LEVI hinweist, auf Nährbodenbesonderheiten zurückzuführen sei, nicht aber einer Umwandlung in einen völlig neuen Zelltypus entspreche. STRANGEWAYS betont mit Recht, daß die Leukozyten des Blutes, sobald sie sich bewegen, eine gewisse Ähnlichkeit mit Fibroblasten zeigen könnten. Das sei aber nur eine oberflächliche Analogie, denn die Kern-Plasmarelation ist beim Fibroblasten eine ganz andere. Sie ist hier verschoben zugunsten des Protoplasmas, bei den Lymphozyten jedoch zugunsten des Kernes. Andere Forscher, wie LEWIS, DE HAAN, sprechen deshalb auch nur von „*fibroblastenähnlichen Zellen*“. Sie neigen nicht dazu, eine wirkliche Verwandlung in einen neuen Zelltypus anzunehmen.

Die Explantate leukämischen Blutes (TIMOFEJEWSKY, BENEWOLENSKAJA (1925 und 1927) ergaben, daß die Myeloblasten polyblastische Potenzen zu entfalten vermögen und sich auch in vitro in Granulozyten (basophile, neutrophile und azidophile) differenzieren können. Das Blut lymphatischer Leukämien dagegen ergab keine Granulozytenformen im Explantat. Menschenblut von leukämisch Erkrankten ist unter anderem von VERATTI (1927) explantiert worden. Dieser Autor konnte keine Differenzierung granulierter Elemente in vitro beobachten. Seiner Auffassung nach wandern in vitro nur Monozyten aus (s. auch HIRSCHFELD), und zwar aus leukämischem wie aus normalem Blute, die sich zu amöboiden Formen, großen Riesenzellen und fibroblastischen Elementen umzuwandeln vermögen. Dieselbe Schlußfolgerung zog CAFFIER, der ebenfalls keine Differenzierung in vitro oder Unterschiede im Verhalten leukämischen und normalen Blutes gesehen hat. Nach CAFFIER sollen sich dagegen die Granulozyten des explantierten Blutes wie die Lymphozyten in monozytenähnliche Formen umwandeln.

Weitere Untersuchungen über diesen Gegenstand sind angestellt worden von C. ELIOT (1926). Sie ergaben, daß die Monozyten sich in epitheloide Elemente zu verwandeln vermögen, was mit der intravitalem Karminspeicherung, die vor der Explantation vorgenommen wurde, genau festzustellen war. Die gespeicherten Monozyten hypertrophierten und waren von Klasmatozyten und epitheloiden Elementen nicht mehr zu unterscheiden. Die Untersuchungen BLOOMS zeigten, daß Lymphzellen des Ductus thoracicus vom Kaninchen nach Zusatz von Tuberkelbazillen sich in epitheloide Elemente verwandeln. Die kleinen Lymphozyten werden zu Polyblasten in vitro, nehmen Lithionkarmin auf und lassen sich nach BLOOM gut von den Monozyten unterscheiden (s. auch MAXIMOW). Sie gehen über in Monozyten, Makrophagen und schließlich auch in Fibrozyten (BLOOM).

Exsudatzellen sind explantiert worden von WIERENSZINSKY (1924), HIRSCHFELD, DE HAAN und KREYBERG, WEITZMANN. Mittels Tuberkulin erzeugte Peritonealexsudate enthielten nach WIERENSZINSKY Lymphozyten, Polyblasten, Granulozyten und auch Fibroblasten. In vitro nun sollen sich die Granulozyten zurückbilden, desgleichen die Lymphozyten,

und die Polyblasten beherrschen schließlich das Feld, indem sie die Zellabfälle der zugrunde gegangenen Elemente phagozytieren und dabei zu Riesenzellen hypertrophieren. Nach DE HAAN enthalten die Kulturen aus Peritonealflüssigkeit schließlich fibroblastenähnliche Elemente, spindelförmige oder weitverzweigte Zellen.

Kulturen von lymphatischem Gewebe (Lymphknoten, Milz) ergeben dreiphasisches Wachstum (LEWIS, CARREL und BURROWS, WEBSTER, BARTA, MCJUNKIN, ZWEIBAUM, LAMBERT, VERATTI, FAZZARI, ERDMANN, LASER, EISNER, BUCCIANTE, A. FISCHER, DOLJANSKY, FREIFELD, GINSBURG, BÖRNER, HUZELA, GIESCHEN, K. BAUER). In der 1. Phase wachsen hauptsächlich Lymphozyten aus. Diese Elemente sind nach MAXIMOW in hohem Grade verwandlungsfähig, sie gehen unter dem Einfluß von Knochenmarkextrakt in Klasmatozyten und Monozyten über, welche sich mitotisch teilen und auf diese Weise schließlich zu Myelozyten werden sollen (MAXIMOW). Später wandern in höherem Grade Retikulumzellen und Fibroblasten mit aus, und schließlich resultiert eine fibroblastische Reinkultur in der 3. Phase. Es ist auffällig,

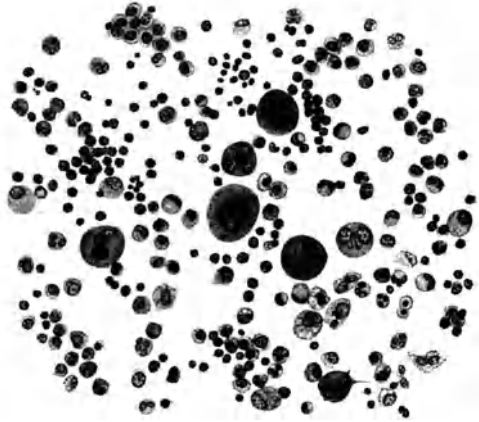


Abb. 31. Milzkultur (erwachsenes Meerschweinchen). 2 Tage alt. Erste Phase. Lauter lymphozytäre Rundzellen, Monozyten und Riesenzellen. Gezeichnet von B. Neresheimer, München.

daß die Verwandlung der Lymphozyten in reinen Plasmakulturen nicht vor sich geht, sondern nur unter dem Einfluß hinzugefügten Knochenmarkextraktes (MAXIMOW, BLOOM). W. H. LEWIS weist darauf hin, daß die MAXIMOWSchen Untersuchungen nur an gefärbtem und fixiertem Material vorgenommen worden sind, und daß die Beobachtung an lebenden Kulturen Zweifel aufkommen lasse, ob es sich hierbei wirklich um echte Verwandlungen in neue Zelltypen handele. Die Retikulumzellen wie die Fibroblasten entstehen direkt aus den synzytialen Verbänden des Mutterstückes. Sie können sich abundant vermehren in Plasmakulturen mit Knochenmarkextrakt, Pigment und Fett aufnehmen und Riesenzellen bilden. Endothelzellen verwandeln sich nach LEWIS und WEBSTER *nicht* in Fibroblasten.

Milzfragmente verhalten sich im Grunde genommen ähnlich wie Lymphknotenexplantate. Auch hier treten in einer ersten Periode vorwiegend amöboide Rundzellen auf, die von den Elementen der Milzsinus herrühren (Abb. 31), und die aus den durch die Schnittführung bei der Explantation eröffneten Flutkammerchen und Milzgefäßen herrühren.

Es handelt sich hauptsächlich um Erythrozyten und nichtgranuläre Formen. Das gilt für die embryonalen Milzexplantate. Bei Explantation erwachsener Milzen ist das insofern anders, als hier auch granuläre Leukozyten mit in der Wachstumszone zu finden sind, die aber relativ rasch wieder verschwinden. Die Lymphozyten jedoch überwiegen in



Abb. 32. Zweite Phase einer Kieselgurgranulomkultur. Lymphozytäre Rundzellen und Histiocyten (Meerschweinchen). Ähnlich verhält sich explantiertes Milzgewebe in der zweiten Phase. Aus K. BAUER: *Z. mikrosk.-anat. Forsch.* 40 (1936). Gezeichnet von B. Neresheimer, München.

beiden Fällen beträchtlich (HERZOG und BÖRNER). In einer 2. Phase wandern Histiocyten mit aus, die niemals zu festen Gewebsverbänden zusammengeschlossen sind. In einer letzten 3. Phase schließlich, die dann die beständige ist und bleibt, treten Fibroblasten in geschlossenen Gewebeverbänden auf. Ähnlich verhalten sich Kieselgurgranulomexplantate.

Die zeitliche Dauer der drei so auffälligen Phasen ist verschieden und abhängig vom Alter des zur Explantation verwandten Materiales und von der Zusammensetzung des Nährbodens. Grundsätzliche Unter-

schiede zwischen dem Verhalten von Milzgeweben verschiedener Tiere und Menschen bestehen nicht. Es ist bereits darauf hingewiesen worden, daß der prozentuale Gehalt an Embryonalextrakt und Serum von Bedeutung ist für alle Kulturen lymphatischen Gewebes. In Serum gedeihen Lymphozyten sehr gut, in Embryonalextrakt jedoch sterben sie leicht ab. Da die in Milzkulturen typische und regelmäßige Verflüssigung des plasmahaltigen Nährbodens offenbar durch die Anwesenheit der lymphozytären Rundzellen hervorgerufen oder begünstigt wird (s. auch LUDFORD), kann man durch Gaben großer Mengen Embryonalextraktes die Rundzellen und damit die Verflüssigung des Nährbodens zum Verschwinden bringen (nach A. FISCHER und DOLJANSKY). Es gibt aber noch andere Mittel, um diesem Verflüssigen zu begegnen. Man kann in Flaschen mit permanenter Durchströmung die Verflüssigung hintanhaltend. Die Härte des Nährbodens, d. i. der prozentuale Plasmagehalt, ist ebenfalls von Wichtigkeit. In harten Nährböden tritt die Verflüssigung nicht so rasch ein.

Außerdem enthalten Milzkulturen Riesenzellen, die ganz enorme Ausmaße annehmen können. Es gibt große, runde Formen mit zentralständigen Kernen, analog etwa den STERNBERGSchen Riesenzellen, und solche mit Hunderten von Kernen, die die ersteren um ein Vielfaches übertreffen (s. LEVI, K. BAUER). G. LEVI fand in Hühnchenembryonalmilzkulturen Riesenzellen von 150 μ Durchmesser. Nach meinen Erfahrungen ist das durchaus nicht das mögliche Maximum. Von diesen riesenhaften plasmodialen Komplexen schnüren sich mitunter kernhaltige Teile ab und werden selbständig.

Auch die Knochenmarkkulturen verhalten sich in ähnlicher Weise (CARREL, BURROWS, FOOT, MAXIMOW, ERDMANN, v. HERWERDEN, BERGMANN, RASMUSSEN, WEITZMANN, MEIER, POSERN). Zuerst finden sich isolierte Elemente, und später wachsen feste Gewebsverbände endothelialer oder fibrozytärer Natur aus. Die zu Beginn auftretenden Elemente sind verschieden beurteilt worden. ERDMANN behauptet, daß die Erythrozyten und die Erythroblasten degenerieren, die Granulozyten später verfallen, ihre Granula verlieren und zugrunde gehen. Nach FOOT sollen die kleinen Lymphozyten sich weiterentwickeln zu Myelozyten und Granulozyten. Diese Verwandlung hat ERDMANN nicht bestätigt. MAXIMOW beobachtete kurzlebige Granulozyten in der Wandlungszone, die schon nach 5 Tagen zurückgebildet wurden. Die Myelozyten teilten sich mitotisch. Die Mehrzahl der ausgewanderten Zellen ging dann jedoch zugrunde, ohne erst eine Rückdifferenzierung zu zeigen. Schließlich beherrschen die Fibroblasten das Bild. Die relativ rasche Rückbildung der Granulozyten hat auch GROSSMANN (1924) beobachtet. Später als die Granulozyten wachsen auch hier Histiocyten aus, die Vitalfarbstoffe aufnehmen, sich mitotisch teilen und keine festen Gewebsverbände zu bilden vermögen. Schließlich treten Endothelien auf und Retikulumzellen, die sich in der Wachstumszone

schwer auseinanderhalten lassen, und dann Fibroblasten. Die Endothelien bilden nicht immer Membranen, sondern oft sind sie von spindelförmiger Form und zu soliden Strängen angeordnet.

Übereinstimmend ergibt sich also, daß in Kulturen von lymphatischen Geweben und von Knochenmarkgewebe sich im Verlaufe von etwa

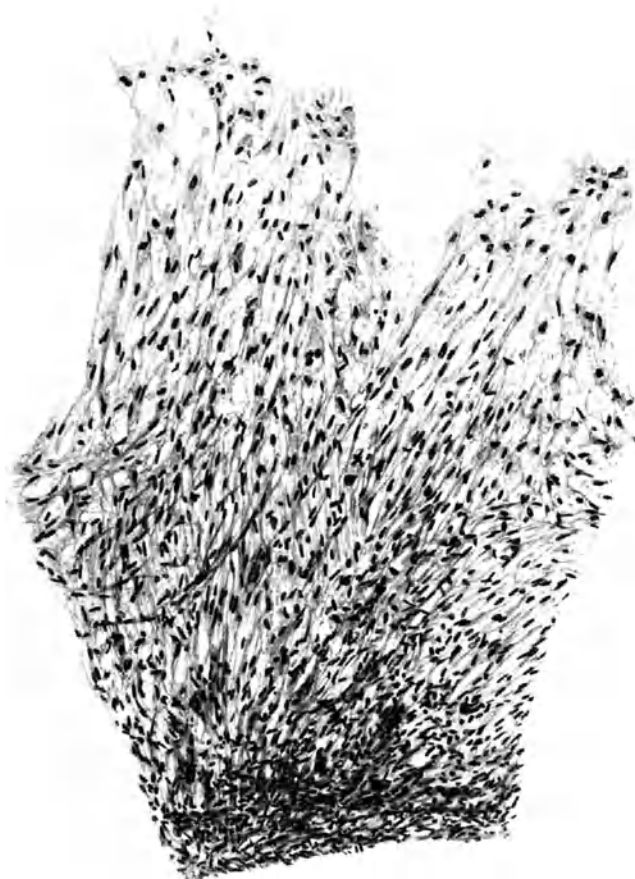


Abb. 33. Aus einer Kieselgurgranulomkultur (Meerschweinchen). Dritte Phase des Wachstums. Epithelioider Struktur. Aus K. BAUER: Z. mikrosk.-anat. Forsch. 40 (1936).

2 bis 3 Wochen ein Umwandlungsprozeß vollzieht, derart daß in einer Phase der Explantation zahlreiche Rundzellen lymphatischer oder auch myeloischer Natur auswandern. Sie bilden sich nach einigen Tagen zurück. Verschiedentlich (FOOT, RASMUSSEN) wird angegeben, daß eine gewisse progressive Differenzierung von kleinen Lymphozyten zu Polyblasten oder von Normoblasten und Myeloblasten möglich ist. In einer

2. Phase treten die Histiocyten auf (Abb. 32), die etwas widerstandsfähiger sind und längere Zeit bestehen bleiben können. In der 3. und letzten Phase schließlich, die die permanente Phase darstellt, entwickeln sich in der Wachstumszone dann die Stromazellen zu festen Gewebsverbänden.

Ähnlich wie die soeben beschriebenen Gewebe verhalten sich, wie schon gesagt, Kieselgurgranulomexplantate. Auch hier finden wir das typische dreiphasische Wachstum (K. BAUER). In einer ersten Periode treten in der Wachstumszone explantierter Kieselgurgranulomfragmente (vom Meerschweinchen) hauptsächlich amöboide Rundzellen auf, die als kleine Lymphocyten und Makrophagen anzusprechen sind. Sie haben einen bläschenförmigen Kern und dringen relativ weit in das Medium hinein vor (s. auch POLICARD). Dabei kommt es ziemlich regelmäßig zu Nährbodenverflüssigung, die im allgemeinen so lange anhält, als die Rundzellen in der Emigrationszone vorhanden sind. Etwas später folgen dann Histiocyten mit den von MAXIMOW für diese Zellkategorie als typisch angegebenen Eigenschaften. Dieselben zeigen keine Neigung zur Bildung fester Verbände, bewahren ihre Selbständigkeit und sind sehr polymorphe Zellen. In einer dritten Periode treten schließlich geschlossene Gewebeverbände fibrozytären, endothelialen oder epitheloiden Charakters auf. In den endothelialen Gewebsverbänden lassen sich vielfach vereinzelt, solide Kapillarsprossen nachweisen, die wie bei der embryonalen Entwicklung als solide, epitheliale Tubuli erscheinen und einige Zeit zu bestehen vermögen (s. Abb. 35). Später gehen sie in dem allgemeinen endothelialen Gewebe mit auf. Sie leiten sich her von den Gefäßsprossen der im Granulationsgewebe enthaltenen Blutbahnen. Aus solchen endothelialen Kieselgurgranulomexplantaten können wieder Rundzellen entstehen, wie Abb. 34 zeigt. Diese haben monozytären Charakter. Hand in Hand mit dieser Verwandlung geht Nährbodenverflüssigung. Was hierbei das Primäre ist, ob die Rundzellbildung aus dem Endothel oder die Verflüssigung, ist nicht genau zu sagen. Wir möchten bei dieser Gelegenheit hinweisen auf die Beobachtung, die LUDFORD machte bei Gelegenheit von Parallelexplantationen von Fibroblasten- und Monozytenreinkulturen. Während die Fibroblasten nicht verflüssigten, solange sie allein in der betreffenden Flasche wuchsen, verflüssigte der Nährboden aber, kurz nachdem eine Rundzellkultur neben die Fibroblastenkultur gesetzt worden war. Es scheint also sicher zu sein, daß gewisse Nährbodenverflüssigende Tendenzen bestehen und mit der Existenz von Rundzellen *in vitro* zusammenhängen. Die letzte und permanent bleibende Phase des Wachstums von Kieselgurgranulomgewebe *in vitro* ist gekennzeichnet durch das Auftreten fester Gewebeverbände fibrozytären, epitheloiden oder endothelialen Charakters, die sich *ad infinitum* weiterzüchten lassen. Die gemachten Beobachtungen geben keinerlei Anhaltspunkte für eine in den ersten Phasen stattfindende Umwandlung von Lymphocyten oder Histiocyten in die fibrozytären, endothelialen oder epitheloiden Elemente der letzten Phase.

Nach unseren Erfahrungen gehen alle jene isolierten Elemente vielmehr früher oder später zugrunde und werden ersetzt durch die zuletzt auswachsenden, zur Bildung fester Gewebsverbände neigenden Zellen (Stroma).

Die Frage der Verwandtschaft und der genetischen Beziehungen der verschiedenen beschriebenen Zellindividuen hämatogener und histiogener Natur, welche in der Wachstumszone auftreten, konnte an Hand der Präparate diskutiert werden (A. CARREL, W. H. LEWIS, de HAAN u. a.). Es handelt sich um die zentrale Frage der Bindegewebforschung und Blutforschung überhaupt. Die Meinungen MAXIMOWS, v. MÖLLENDORFFS, ASCHOFFS, MARCHANDS und HUECKs stehen sich gegenüber. Ist der kleine Lymphozyt der temporär in inaktiven Zustand versetzte Hämozytoblast (MAXIMOW)? Oder ist der gewöhnliche Fibrozyt verwandlungsfähig in Makrophagen, Monozyten, Granulozyten (v. MÖLLENDORFF)? Oder liegt der genetische Ursprung alle jener multiformen Elemente im retikuloendothelialen System ASCHOFFS, oder in der sogenannten Mesenchymzelle HUECKs? Oder hat MARCHAND recht, der in der Adventitialzelle bzw. in der Endothelzelle (HERZOG) die Quelle aller jener so wichtigen Verwandlungen sieht? — Alle hier genannten Theorien sind gut begründet und von namhaften Forschern vertreten worden.

Zu dieser Frage hat der Verfasser bereits eingehender Stellung genommen auf Grund histogenetischer Untersuchungen (K. BAUER 1934), worauf hier verwiesen sei. Die Fragen sind auch heute noch sehr verwickelt, und die Ergebnisse der Gewebezüchtung haben das Eine mit Sicherheit nachgewiesen, daß die betreffenden Elemente *in vitro* sehr wenig stabil im morphologischen Sinne sind. Sie besitzen eine große biologische Plastizität. Gerade diese besondere Eigenschaft läßt sich *in vitro* gut demonstrieren. W. H. LEWIS schreibt 1924, daß gewisse „Transformationen“ in Form und Charakter der kultivierten Zellen wahrscheinlich weder Differenzierung noch Dedifferenzierung bedeuteten, sondern Adaptation an die neue Umgebung. Die Transformation erwachsenen Endothels in fibroblastenähnliche Elemente, wie es MAXIMOW angegeben hat, oder die von Mesenchym in Mesothel (W. H. LEWIS) oder von retikulären Zellen in Lymphknotenkulturen in große polyblastische, amöboide Zellen (MAXIMOW), in phagozytäre Makrophagen und in Riesenzellen sind nach LEWIS keine wirklichen Differentiationen, desgleichen nicht die Transformationen kleiner Lymphozyten in große und diejenige großer in kleine sowie ebenfalls nicht die Transformation von Blutmonozyten in fibroblastische Elemente (CARREL).

Solche spontanen Formänderungen sind in der Tat sehr häufig zu beobachten (BERGEL). Es bleibt nun die Frage übrig, ob solche *in vitro* zu sehenden „Transformationen“, wie LEWIS es bezeichnet wissen will, die nicht einer Umwandlung in einen neuen Zelltypus entsprächen, nur auf die Verhältnisse *in vitro* beschränkt bleiben oder auch *in situ* eintreten können, z. B. bei den verschiedenen pathologischen (entzündlichen)

Zuständen, bei denen auch eine Veränderung des allgemeinen Milieus der Zellen festzustellen ist (Veränderungen der Interzellulärsubstanzen, Viskosität). Es wären demnach reversible Prozesse, die beschriebenen Formänderungen, wenn die Meinung von LEWIS zu Recht bestünde. Sicherlich ist das rasche und spontane Formveränderungsvermögen der betreffenden Zellindividuen nicht eine spezifische Eigenschaft gerade dieser Elemente, sondern wohl mehr bedingt durch die aufrecht erhaltene *Zellindividualität* und die mangelnde Neigung zur Bildung geschlossener Gewebeverbände. Isoliert lebende Elemente neigen an sich zu größerer Formenmannigfaltigkeit und sind variabler als die mehr uniformen, im geschlossenen Gewebeverband befindlichen Zellen.

Auffällig ist, daß keine Beobachtungen erhoben worden sind über Mastzellreinkulturen, Plasmazellreinkulturen und Granulozytenreinkulturen. Hier liegen offenbar wirkliche Differenzierungen vor im Sinne einer mit besonderer morphologischer Spezifität einhergehenden besonderen, physiologischen Arbeitsleistung. Die betreffenden Elemente verschwinden ziemlich rasch *in vitro* und gehen zugrunde. Demnach wären alle hier nicht genannten isolierten Zellelemente (Lymphozyten, Monozyten, Histiocyten) bis zu einem gewissen Grade wandlungsfähige Formen, Zellen, die nicht differenziert sind wie die Granulozyten, was sich in der gut erhaltenen biologischen Plastizität zeigt. Mit Einschluß der Fibrozyten und des Endothels, deren Plastizität auf Grund unserer Erfahrungen allerdings geringer ist, zeigen die Lymphozyten, Monozyten, Histiocyten eine beachtliche Inkonzanz und Labilität *in vitro*. Hierfür lassen sich zahllose Beispiele anführen (MAXIMOW, BLOOM, G. LEVI, W. H. und M. R. LEWIS, DE HAAN, HUZELLA u. a.). Es hat sich aus den Befunden mit ziemlicher Sicherheit ergeben, daß die Blutmonozyten nicht, wie SABIN, DEAN und CUNNINGHAM annehmen, von den Klasmatozyten der Gewebe zu trennen sind (CARREL). Das ist ein weiteres wichtiges Faktum.

Die Idee, daß *eine* bestimmte Zellart als embryonale Blutstammzelle die ganze Entwicklung durchläuft und im erwachsenen Körper sich permanent erhält, ist von MAXIMOW am konsequentesten bearbeitet und durchdacht worden. Der kleine Lymphozyt sei der temporär in inaktiven Zustand versetzte Polyblast. Bei Zusatz von Knochenmarkextrakt zu Lymphozytenreinkulturen erhielt MAXIMOW bekanntlich Elemente mit eosinophilen und neutrophilen Charakteren. Diese Versuche sind jedoch angefochten worden (W. H. LEWIS, VERATTI). Die ganze Blutzellforschung ist im Grunde genommen darauf eingestellt, Kriterien für den embryonalen, pluripotenten Charakter jener indifferenten Stammzellen zu finden, die für die regenerativen Prozesse im erwachsenen Körper in Frage kommen. Im Gegensatz zu MAXIMOW steht die Lehre ASCHOFFs (Triplismus), nach welcher die Elemente der myeloischen, lymphatischen Reihe und die Histiocyten getrennte Zellgruppen sind, die im retikuloendothelialen System ihren Ursprung haben.

Die Ergebnisse der Gewebezüchtung zu dieser Frage faßt G. LEVI folgendermaßen zusammen: Monozyten des Blutes können Makrophagen liefern (Volumenzunahme, Neutralrotreaktion, Fettbläschen, Chondriom). Klasmatozyten des Bindegewebes, die nach CARREL, EBELING, W. H. LEWIS als wirkliche Monozyten aufzufassen sind, verwandeln sich sehr rasch in große Makrophagen. Die Retikulumzellen der Milz und der lymphoiden Organe nehmen in der Kultur Vitalfarbe und Fett sehr spärlich auf und spät, verglichen mit den Klasmatozyten des Bindegewebes. Sie können sich in Makrophagen verwandeln. Die Endothelien der Lebersinus, Milzsinus können Makrophagen liefern. Doch ist nach LEVI die Modalität dieses Vorganges nicht genauer bekannt. G. LEVI behauptet, daß die Kulturbefunde die Meinungen MARCHANDs, HERZOGs, SABINS, DEANS und CUNNINGHAMs, nach welchen die Klasmatozyten aus Endothelien stammen, *nicht* befürworteten. Es ist aber doch relativ häufig zu beobachten, daß aus endothelialen Membranen Rundzellen entstehen, zuerst herdweise, dann in großen Mengen (s. Abb. 34). Aus verschiedenen Endothelkulturen, die von Kiesegurgranulomexplantaten oder Gefäßen stammten, konnte Verfasser eine solche Umwandlung beobachten. Hingewiesen sei ferner auf die interessantesten Untersuchungen von A. THOMAS (1938) über Rundzellbildung aus Dotterentodermkulturen. Epithel ist also sehr wohl fähig zu gesteigerter Rundzellbildung. Schließlich bleiben noch die gewöhnlichen Fibroblasten übrig. Sie sollen nach v. MÖLLENDORFF in hohem Grade verwandlungsfähig sein. Sicherlich können sie Makrophagen liefern (A. FISCHER, EPHRUSSI, CARREL).

Die Monozyten des Blutes und die Klasmatozyten des Bindegewebes sind verwandte Gebilde (W. H. LEWIS, A. CARREL). Angesichts dieser vielfältigen Befunde ergibt sich zusammenfassend, daß die Tendenz zur Zellindividuation vorhanden ist in gewissen festen Gewebeverbänden (Retikulumzellen der lymphatischen Organe, Endothelien, Fibroblasten), und daß offenbar die Monozyten die am stärksten *in vitro* proliferationsfähigen Elemente der Blutzellreihe darstellen. Sie vermehren sich nach CARREL durch Mitose, überleben in den Kulturen des Blutes alle übrigen Elemente und konnten einige Monate lang in diesem Zustande gehalten werden. Für gewöhnlich bleiben sie isoliert; rücken sie zusammen, so sterben sie nach CARREL ab. Sie können Formveränderungen sehr mannigfaltiger Natur eingehen (amöboide Fortsätze, fibroblastenähnliche Fortsätze nach CARREL). Sie sind empfindlich gegenüber dem Embryonal-extrakt. Sie sind identisch mit den Bindegewebsmakrophagen.

Angesichts der Befunde in den Kulturen scheint es notwendig, die gesicherten Tatsachen der Histogenese zum Vergleich heranzuziehen. Es liegen zunächst gewisse nomenklatorische Inkonssequenzen und Schwierigkeiten vor, die zu klären sind. Das gilt in erster Linie für den landläufigen Mesenchymbegriff. Dieser stammt von O. HERTWIG und ist für das embryonale Füllgewebe verwendet worden, welches in einer bestimmten embryonalen Epoche zwischen den Keimblättern auftritt.

Es wird nun heute der Mesenchymbegriff und auch der Begriff Bindegewebszelle oder mobilisierte Bindegewebszelle auf ganz verschiedenartige und heterogene Dinge bezogen. Man spricht von Bindegewebszellen, die Fasern bilden, Knorpel und Knochen entstehen lassen, und ferner auch von Bindegewebszellen, die Blutzellen entstehen lassen sollen. In gleicher Weise wird der Mesenchymbegriff gehandhabt (W. HUECK), der sehr weit gefaßt wird. Es kann kein Zweifel sein, daß hier Schwierigkeiten liegen, die zu Verwirrung Anlaß geben, und die zu beseitigen sind. Wir unterscheiden in der Histogenese faser- und grundsubstanzbildende Vorgänge von solchen blut- und blutgefäßbildender Natur, und diese sind auseinanderzuhalten. Unter Mesenchym versteht man gewöhnlich alles, die bindegewebigen Blasteme und die blutbildenden, die Gefäßanlagen ebenso wie die Knorpel- und Knochenanlagen. Es liegt heute noch dieselbe Situation vor wie damals, als C. RABL seinen berühmten Vortrag hielt über die Prinzipien der Histologie und sagte, daß man unter Bindegewebe alles das zusammenzufassen gewohnt sei, was man nicht genau definieren könne. Auch MAXIMOW bedient sich des Mesenchymbegriffes in der genannten Weise.

Betrachtet man die ganze Frage vom histogenetischen Standpunkt aus, so ergibt sich, daß der Begriff „Mesenchym“ zu reservieren ist lediglich für die interzellulärsubstanzbildenden embryonalen Gewebe. Daß zufällig eine Syntopie zwischen diesem Gewebe und den blut- und gefäßbildenden Geweben besteht, beweist noch nicht eine genetische Beziehung. Daß eine faser- oder knorpelbildende Mesenchymzelle zugleich auch zum Hämocytoblasten werden kann oder zur Endothelzelle, hat in Wirklichkeit noch niemand beobachtet. Trotzdem bezieht man aber den Mesenchymbegriff auf beide so verschiedenwertige Prozesse. Beide Vorgänge sind aber trotz der engen Lagebeziehungen, die bestehen, auseinanderzuhalten. Die Mesenchymzelle kann also nicht zugleich Hämocytoblast, Fibroblast, Chondroblast und Osteoblast sein.

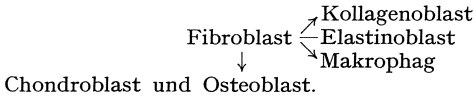
C. RABL rechnet das Bindegewebe und das Mesenchym, seine embryonale Vorstufe, im Sinne der oben gegebenen Definition zu den apothelialen Geweben, zu jenen also, die an den basalen Seiten ihre Differenzierung beginnen — im epithelialen Bindegewebe von HELD. Der Blut- und Gefäßbildungsvorgang aber spielt sich ab an anderer Stelle. Diese Bildungen gehören zu den echten Epithelgeweben im Sinne RABLS, denn ihre ersten Anlagen sind *solide* Formationen, solide epitheliale Blutinseln stellen den histogenetischen Anfang dieser Strukturen dar. Diese soliden epithelialen Anlagen werden hohl und liefern Endothel und Hämocytoblast. Das Mesenchym dagegen wächst in Gestalt dreidimensionaler Netze und Retikula. In Form solider Sprossen legen sich die ersten Blutgefäße an. Alles bei der Histogenese dieser Bildung weist auf epithelialen Ursprung, epitheliale Wachstumsart hin, hat epithelialen Charakter. Es besteht also nicht nur eine Spezifität der Lage beider so verschiedenwertiger Gebilde, des Mesenchyms und der Blutbildungsherde

und Gefäßanlagen, sondern es besteht auch eine Spezifität der Wuchsform, der man hier merkwürdigerweise so wenig Gewicht beizumessen geneigt ist. Retikuläres Wachstum ist doch ein großer Gegensatz zu solidem Wachstum von Inseln, Strängen und Sprossen. — Rundzellbildung aus Epithelien ist oft beobachtet worden (THOMAS: Dotterentoderm). Die Beobachtungen von THOMAS geben eine gute Stütze der hier vertretenen Auffassung.

Betrachten wir nach diesem histogenetischen Exkurs die Ergebnisse der Züchtungsforschung, so ergibt sich folgendes: Auch in vitro unterscheiden sich Mesenchym mit seinen Abarten (Knorpel, Knochen, Faser-gewebe) in grundlegender Weise von endothelialelem Wachstum und von demjenigen der Blutelemente. Endothel ist etwas Besonderes, das nichts mit Fibroblasten zu tun hat. Die Vorstellung HEIDENHAINS, daß Endothel und Epithel streng voneinander zu trennen seien, weil das Endothel mesodermaler Herkunft sei und eine „genetische und tatsächliche Identität“ mit den Mesenchym- oder Bindegewebszellen bestehe, ist bekannt. Trotzdem möchten wir Mesenchym und Endothel auseinanderhalten. Die gelegentlichen Abweichungen des Endothelwachstums (Neigung zu retikulären Formationen, W. H. LEWIS) ändern nicht viel an dieser Tatsache, wie LEWIS selbst zugibt. Es handelt sich hier offenbar um Anpassungserscheinungen an Nährbodenbesonderheiten. Die Bildung solider endothelialer Gefäßsprossen läßt sich in frischen Endothelkulturen oft beobachten (Abb. 35). Die Endothelzelle hat blutzellbildende Eigenschaften, die auch in vitro zu sehen sind (K. BAUER, THOMAS). THOMAS' Befunde gehören hierher, obwohl der Autor nicht ausdrücklich von Endothel spricht, aber doch von Dotterentoderm, aus welchem sich die Blutinseln bilden. Fibroblast und Hämocytoblast sind histogenetische Gegensätze. Damit ist die ASCHOFFSche Lehre vom Retikuloendothel, nach welcher die endotheliale Herkunft vieler Histiozyten ein Prinzip der Genese ist, bestätigt, vor allem aber die Auffassung MARCHANDs und HERZOGs (s. auch SABIN, DEAN, CUNNINGHAM). Die Adventitialzellen MARCHANDs haben polyvalente Eigenschaften im Sinne der Hämatopoese, sie können zweifellos als Polyblasten in situ fungieren. In vitro wachsen sie mit den soliden Kapillarsprossen aus, beteiligen sich an der endothelialen Membranbildung und bleiben Endothelien so lange, bis unter noch unklaren Einflüssen wieder Rundzellen entstehen. Die Adventitialzelle, die wahrscheinlich von der Endothelzelle herrührt, ist ein echter Histiozyt oder Klasmatozyt, nicht ein einfacher Fibroblast. Das zeigt schon die dunklere Tingierung dieser Zellen nach Molybdänhämatoxylinfärbung. Die Retikulumzellen sind dagegen den Fibrozyten an die Seite zu stellen, denn sie enthalten ein faseriges Produkt, die Retikulinfaser. Ihnen kommen keinerlei polyblastische Potenzen zu. Die hier vertretene Auffassung schließt sich eng an die von W. HIS, C. RABL stammenden Gedankengänge und an die Auffassungen von F. MARCHAND, G. HERZOG, bis zu einem gewissen Grade auch an die von SABIN, DEAN und CUNNINGHAM an.

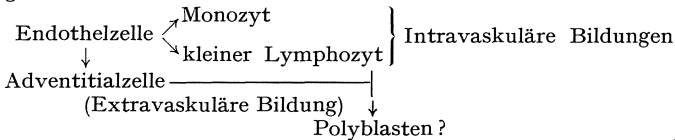
Zum Schluß sei folgendes Schema zur Kennzeichnung der Lage gegeben: *Die histogenetischen Ausgangsorte der Bestandteile des erwachsenen Bindegewebes sind:* a) das Mesenchym und b) die Blutinsel.

a) *Mesenchym:* Differenzierungsprodukt der ventromedialen Urwirbellamelle. *Apotheliales* Gewebe im Sinne von RABL-HELD. Intraembryonale Bildung.



In vitro: Immer feste Gewebsverbände. Wachstumsform: Dreidimensionales Retikulum.

b) *Blutinsel:* Differenzierungsprodukt des Entoderms (oder Mesoderms). *Epitheliales* Gewebe. Extraembryonale Bildung. Solide Inseln und Stränge.



In vitro: Endothelzelle. Feste Gewebeverbände epithelialer Natur. Membranen, Sprossen. Fähigkeit zur Rundzellbildung.

Monozyten und Lymphozyten: Keine Neigung zur Bildung geschlossener Gewebeverbände.

f) Das Wachstum von Geschwülsten in vitro (Kieselgurgranulome, Karzinome, Sarkome).

Kieselgurgranulome von Meerschweinchen, welche im Alter von 3 Wochen explantiert werden, zeigen ein typisches dreiphasisches Wachstum, analog den Milzkulturen (s. S. 427). Kurz nach der vollzogenen Explantation wandern Rundzellen, welche infolge der gesteigerten amöboiden Tätigkeit ziemlich große Formenvariabilität aufweisen, in den Nährboden hinein. Es handelt sich zunächst hauptsächlich um kleine und große Lymphozyten. Nach Auftreten dieser amöboiden Rundzellen erscheinen in der Wachstumszone neue Elemente, Histozyten mit spindeligem Zelleib, rundem oder ovalem Kern und einem oder zwei kurzen Protoplasmafortsätzen. Sie bilden keine Gewebsverbände, sondern liegen immer einzeln (Abb. 32). Schließlich finden sich auch größere Makrophagen mit undulierender Membran. Das ist von POLICARD ebenfalls beschrieben worden. In einer dritten Phase jedoch treten neue und andersartige Phänomene auf: Die Bildung solider, fester Gewebeverbände endothelialer, epitheloider (Abb. 33 und 35) und fibrozytärer Natur.

Diese festen Gewebsverbände lassen sich auf die Dauer in der gleichen Weise züchten wie die unsterblichen Fibroblastenkulturen. In Explantaten junger Kieselgurgranulome, die wesentlich ausgedehntere Nekrosen

aufweisen als die älteren, dauern die ersten zwei Phasen des Wachstums länger, in älteren Granulomen jedoch sind die ersten zwei Phasen unter Umständen sehr kurz, weil die bindegewebigen Organisationsvorgänge in der Geschwulst schon ausgedehnteren Umfang angenommen haben, und Granulationsgewebe in großem Umfange gewachsen ist. Schließlich können in 6 Wochen alten Kieselgurgranulomexplantaten gleich zu

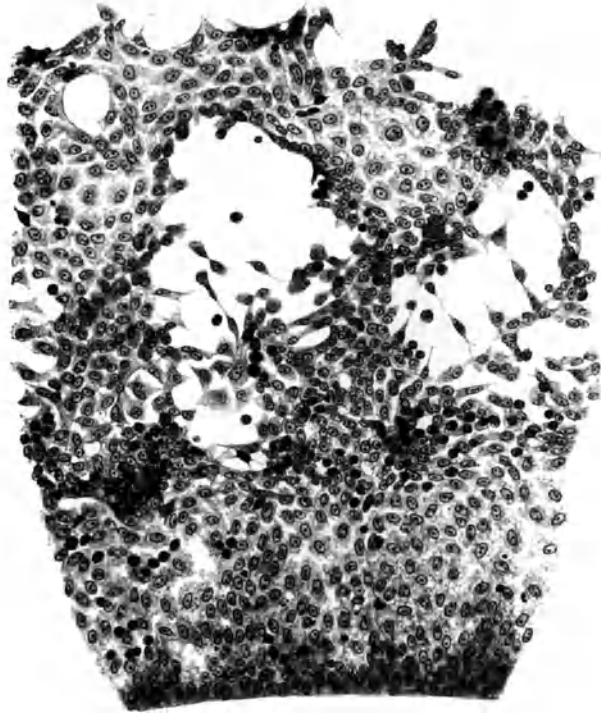


Abb. 34. Aus einer Kieselgurgranulomkultur. 4. Woche. Endotheliales, membranartiges Wachstum. Sekundäre Differenzierung von Rundzellen aus den Elementen der Membran. Zenker, Held. Gezeichnet von B. Neresheimer, München.

Beginn die festen Gewebsverbände auftreten und das Bild von Anfang ab beherrschen.

Das Wachstum der bösartigen Geschwülste soll hier nur in den hauptsächlich Grundzügen besprochen werden, nur insoweit als es uns etwas Besonderes über die morphologischen Strukturen, die *in vitro* möglich sind, im Sinne der einleitend gegebenen Erörterung aussagt.

Die bösartigen Tumorzellen haben *in vitro* stark verflüssigende Eigenschaften. Das war auch zugleich die Ursache für die anfangs bestehenden Schwierigkeiten, die betreffenden Gewebe über längere Zeit zu erhalten. A. FISCHER hat die Fähigkeit der Tumorzelle, *in vivo*

das gesunde Gewebe zu infiltrieren, ausgenützt und zu Sarkomgeweben *in vitro* totes Muskelgewebe zugesetzt. Auf diese Weise gelang es, der lästigen Verflüssigung einigermaßen Herr zu werden. Die Kulturen konnten wochenlang gezüchtet werden. Die ersten Versuche, Karzinome und das Roussarkom besonders zu züchten, wurden schon früh ausgeführt von CARREL, EBELING, CHAMPY, THOMSON, VERATTI, LAMBERT und HANES u. a. Es bestehen Wachstumsunterschiede zwischen Sarkom- und Karzinomzellen derart, daß bei Sarkomexplantaten mehr isolierte Elemente zu sehen sind, spindelige oder auch runde Elemente, während bei Karzinomexplantaten dichtere Zellschleier sich bilden.

Die Roussarkomzelle durchdringt *in vitro* sehr rasch abgetötetes und beigefügtes Muskelgewebe wie *in vivo*. Diese Durchwachsung ist so intensiv, daß nach einiger Zeit beide Anteile nicht mehr zu trennen sind. Man kann auf diese Weise Dauerkulturen erhalten, daß man bei jeder Explantation ein neues Stückchen Muskelsubstanz, das vorher durch Gefrieren abgetötet worden war, zufügt. Ein anderer Weg ist der, daß ein harter Nährboden verwandt wird, also etwa 1 ccm unverdünntes Hühnerplasma in der Carrelflasche, welches durch einen Tropfen Embryonalextrakt zur Gerinnung gebracht worden ist. Es gibt heute noch andere und bessere Möglichkeiten, der Verflüssigung des Nährbodens Herr zu werden, so daß dieses Phänomen nicht mehr als ein Hindernis angesehen werden kann für Dauerzüchtung. Trotzdem ist die Verflüssigung ein recht interessantes und wichtiges Ereignis in der Kultur, welches merkwürdigerweise vielfach überhaupt nicht erwähnt wird (z. B. WEITZMANN).

A. FISCHER gibt an, aus einer einzigen Sarkomzelle, die *in vitro* explantiert worden ist, durch fortschreitende Teilungen ganze Sarkomkulturen erhalten zu haben. Das ist der einzige Fall, der beschrieben worden ist.

Nach W. H. LEWIS neigen die explantierten Sarkomzellen dazu, retikuläre Formationen wie die Bindegewebszellen zu bilden. Andere bleiben isoliert. Die Karzinomzellen dagegen bilden nach LEWIS solide Membranen. Zellteilung und amöboide Tätigkeit verlaufen aber viel



Abb. 35. Reine Endothelkultur, gezüchtet aus 3 Wochen altem Kieselgurgranulomgewebe. Dunkler gefärbte solide epitheliale Kapillarsprossen. Zenker, Held. Aus K. BAUER: Z. mikrosk.-anat. Forsch. 40 (1936).

rapider. Es ergab sich ferner die interessante Tatsache (nach LEWIS), daß Sarkomzellen, in das Plasma eines normalen Tieres explantiert, weniger intensiv wuchsen als in Autoplasma und auch weniger intensiv oder nicht wuchsen, wenn sie in Plasma verpflanzt wurden, das von einem Tier stammte, welches auch Sarkomträger war. Das Plasma sarkomatöser Tiere erwirbt nach CARREL und BURROWS die Fähigkeit, Sarkomwachstum *in vitro* zu hemmen, wenn das betreffende Gewebe von anderen Tieren stammt (LAMBERT, HANES).

Auffallend und spezifisch besonders für die Roussarkomzellen ist die relativ große Schwankungsbreite in der Zellform. Die Größe variiert beträchtlich. Als hauptsächliche Formen lassen sich zwei unterscheiden: die kleinen oder größeren Rundzellen und die spindeligen Elemente, die wie Fibroblasten aussehen. Die feineren Unterschiede sind von W. H. LEWIS (1938), CARREL, BORREL u. a. genauer angegeben worden. Das Protoplasma enthält Granulationen, die teilweise den Kern verdecken können. Der Kern weist einen Nukleolus auf. Vakuolen im Zytoplasma oder schaumartige Struktur desselben, amöboide Fortsätze, die schmal und fadenförmig wie Flimmerhaare sein können, sind weitere morphologische Kennzeichen. BORREL beschreibt mehrkernige Plasmodien, die sich durch Kernteilung und Zytoplasmahypertrophie herausgebildet haben sollen. Diese Plasmodien sollen beachtliche Größe erreichen, bis zu 500 μ . Wir haben ähnliche Riesenzellen oder Plasmodien in Explantaten von Milzen beobachtet, die von Säugern (Meerschweinchen) stammten (K. BAUER). Hunderte von Kernen sind im Inneren gelagert. Auffällig ist, daß man in den amöboiden Zellen selten Mitosen sieht trotz der rapiden Vermehrung dieser Elemente (BORREL, BISCEGLIE, POLICARD, EBELING u. a.). Daß die Zellnatur explantierter Tumoren sehr variabel ist, beschreibt auch BLAND (1938)¹, der in Explantaten von Meningiomen 4—5 verschiedene Zelltypen unterscheidet.

Als eine weitere den bösartigen Tumorzellen gemeinsame Eigenschaft sieht man die oft zu beobachtende Neigung zweier isolierter Zellen zu Verschmelzen an (Sarkome, FLEXNER-JOBLING-Karzinom) (A. FISCHER u. a.). Zellen verschiedener Größe versuchen, in andere einzudringen, trennen sich wieder, teilen sich amitotisch. Schließlich wachsen noch Stromazellen aus, also hauptsächlich Fibroblasten, welche nach FISCHER besondere phagozytäre Eigenschaften entfalten sollen und sich auch durch recht beachtliche Größenunterschiede auszeichnen (s. auch BORREL).

Nach A. FISCHER u. a. ist es sehr schwierig, die eigentlichen bösartigen Elemente des explantierten Sarkomgewebes zu bestimmen, da eine relativ große Polymorphie der Zellen herrscht. Nach CARREL sollen die Explantate um so maligner sein, je mehr Makrophagen sie enthalten. Die großen Makrophagen sind also wahrscheinlich die eigentlichen Träger der Malignität und nicht die spindeligen Elemente. Das gilt besonders für das Roussarkom. Das Filtrat dieses Tumors ist imstande, normale

¹ BLAND: Arch. exper. Zellforsch. 22 (1938).

Monozytenreinkulturen umzuwandeln, derart daß eine Implantation der so behandelten Kultur in das erwachsene Huhn zur Bildung eines



Abb. 36. Explantat aus 10 Tage altem Kieselgurgranulomgewebe gezüchtet, in der Peripherie fibroblasten-ähnliche Elemente, in den zentralen Partien mehr Rundzellen, regressive Veränderungen im Mutterstück infolge Kieselgurnekrosen, die auch auf die zentralen Partien der Wachstumszone übergreifen.

Aus K. BAUER: Z. mikrosk.-anat. Forsch. 40 (1936).

Sarkoms führt (CARREL). Die behandelten Monozyten nehmen also die Eigenschaften der Sarkomzellen an. Die Fibroblasten des Roussarkoms sollen dagegen nach CARREL, wenn sie von den amöboiden Rundzellen isoliert worden sind und in Reinkultur gezüchtet werden, die Fähigkeit

einbüßen, maligne Tumoren zu erzeugen. Nach CARREL sind die großen amöboiden Elemente des Roussarkoms diejenigen, welche die eigentlich kranken sind und bösartige Eigenschaften aufweisen. Sie sind nur kurze Zeit lebensfähig. Diese amöboiden Zellen der Sarkome sind in den Explantaten von Hühner-, Maus-, Ratten- und Menschensarkom sehr ähnlich (POLICARD, LEWIS und GEY, CHAMPY, BORREL, LAMBERT und HANES, DREW, VERATTI u. a.). HAAGEN teilt denselben Standpunkt wie CARREL, daß die monozytären Makrophagen die Träger der Bösartigkeit sind. Nach POLICARD sind die Sarkomzellen modifizierte Histiozyten. Sie gliedern sich in kleine und größere Rundzellen und in spindelige Typen. Formvarietäten sind sehr häufig. In den großen Rundzellen unterscheidet POLICARD einen zentralen Granuloplasmateil und einen peripheren Hyaloplasmateil. Häufig ist eine undulierende Membran zu beobachten. Die Granula seien hauptsächlich Mitochondrien. Neutralrotvesikel, Fettgranula und Fettkristalle kennzeichnen weiterhin das Bild des Plasmas.

Die Zellteilungen in Sarkomzellen finden auch statt, wenn die Elemente isoliert liegen. Mitotische Teilungen werden selten gesehen (A. FISCHER). Die Kerne sind oft riesengroß, oval oder unregelmäßig mit Chromatinfäden und Nukleolen. A. FISCHER faßt im Anschluß an die Ergebnisse der oben angeführten Autoren die hauptsächlichlichen Kennzeichen der Sarkomelemente folgendermaßen zusammen: 1. Die amöboiden Zellen sind die Träger der Bösartigkeit. Die amöboide Fähigkeit ist besonders groß. 2. Mangelhafte Fähigkeit der Zellen, zusammenhängende Gewebe zu bilden. 3. Fähigkeit, sich isoliert zu teilen. 4. Fähigkeit, Zytoplasma sowohl aus gewissen Teilen des Serums als auch aus heterologem Material (s. das Muskelexperiment) aufzubauen. 5. Stark vermehrte Phagozytose. 6. Starke Verflüssigungsfähigkeit. 7. Vermehrte aerobe Glykolyse (WARBURG). 8. Fähigkeit der Makrophagen, sich unter chemischen Einwirkungen in bösartige Zellen *in vitro* zu verwandeln. Nach W. H. LEWIS sind normale und sarkomatöse Zellen absolut voneinander morphologisch zu unterscheiden. Als hauptsächlichliche Charakteristika gibt LEWIS an (1938): Die größere Schwankungsbreite in der äußeren Gestalt der Sarkomzelle gegenüber den normalen Fibroblasten, das häufige Auftreten von mehreren Kernen und von Riesenkernen in Sarkomzellen, die größere Dichte ihres Zytoplasmaleibes, die höhere Zahl an Mitochondrien, irreguläre Mitosen usw.

Die Karzinomzellen wachsen nach A. FISCHER in Form von Membranen, Strängen, Röhrenchen oder Zapfen (s. auch LUDFORD, ROBINOW). Die Stromazellen wachsen nur spärlich aus und werden von den Epithelzellen „erdrückt“ (RH. ERDMANN, BISEGLIE). Regressive Vorgänge sind immer zu beobachten (A. FISCHER). Atypische Mitosen mit mehreren Polen sind die Regel (CHLOPIN, LUDFORD, DREW, LAMBERT und HANES). Nach LEWIS teilen sich die Chromosomen der Krebszellen viel häufiger in der Längsrichtung als die normalen. Karzinomgewebe wächst in

gleicher Weise infiltrierend in gesunde Körpergewebe in vitro hinein, wie das von den Sarkomgeweben oben schon beschrieben worden ist. Das Wachstum verläuft schnell. Die Neigung zur Bildung fester Gewebeverbände ist also in diesem Falle stärker ausgeprägt, als das bei dem Sarkom in vitro der Fall ist. Das Zytoplasma ist stärker färbbar, zeigt Neutralrotgranula und besitzt Chondriosomen unregelmäßig verteilt (A. FISCHER, W. H. LEWIS, LASER).

Bezüglich der genaueren Unterschiede in der Morphologie der Geschwulstzellen, verglichen mit normalen Körperzellen, hat W. H. LEWIS in seinem Referat auf der Tagung des Internationalen Zellforscherkongresses 1938 ausführliche und übersichtliche Zusammenstellungen gegeben, auf die hier verwiesen sei. Während bei den Sarkomkulturen die Frage, an welche Elemente der Kultur die Malignität gebunden ist, anfangs Schwierigkeiten machte, bis CARREL, EBELING, A. FISCHER, POLICARD u. a. es wahrscheinlich machten, daß es die amöboiden Elemente sind (nach LEWIS unterscheiden sich aber auch die Sarkomfibroblasten von den normalen!), liegen die Verhältnisse beim Karzinom insofern einfacher, als kein Zweifel besteht, daß es die Epithelien sind, die als Träger der Bösartigkeit in Frage kommen und nicht irgendwelche Stromazellen. Es ist beobachtet worden, daß oft zu Beginn der Explantation bindegewebige Stromazellen auswachsen und erst nach Stunden die typischen Karzinomzellen folgen (DREW: Explantation von Mammakarzinom der Maus). Später aber werden gewöhnlich die Stromazellen durch die malignen Epithelien vernichtet.

Auf die zahlreichen Versuche zur Umwandlung normaler Körperzellen in maligne sei hier nur kurz hingewiesen. K. LANDSTEINER, CARREL und A. FISCHER haben versucht, Fibroblastenreinkulturen in Sarkomzellen zu verwandeln durch Zusatz kleiner Mengen von Teer und Arsen. Es wurden nur teilweise Erfolge erzielt (A. FISCHER). BISCEGLIE hat durch Röntgenbestrahlung normale Gewebezellen in vitro in bösartige Geschwulstzellen verwandelt. Milzkulturen entwickelten sich zu Spindelzell-sarkomen. Auf die Versuche CARRELS mit der Einwirkung des filtrierten Roussarkomextraktes auf Monozyten und deren Umwandlung in Sarkomzellen ist schon oben hingewiesen worden. Es gehören ferner die Arbeiten von HAAGEN, W. H. LEWIS, MAUER, LUDFORD, MENDELEEFF hierher. MAUER beschreibt nach Einwirkung von Benzpyren, Benzanthrazen, Dibenzanthrazen und Methylcholanthren in starker Verdünnung Wachstumsbeeinträchtigung, Amitosen, Verflüssigungen, Riesenzellen.

ERDMANN nahm an, daß bei unbalanzierem Vitaminstoffwechsel es zu Gewebsauflösung in vitro komme. Die isolierten Elemente sollen wachstumsfördernde Substanzen ausscheiden. Nach MENDELEEFF liegen ähnliche wachstumsfördernden Substanzen vorwiegend in der Leber. Versuche von A. FISCHER haben aber entgegengesetzte Resultate ergeben.

g) Über kontrolliertes („organoides“) Wachstum komplexer Gewebe *in vitro*.

Hier handelt es sich hauptsächlich um sogenannte „Ganzexplantate“, d. h. Züchtung ganzer Keimscheiben oder größerer Teile von solchen (MAXIMOW, MCWORTHER, WHIPPLE, BRACHET, WADDINGTON, FELL, ROBERTSON, SABIN 1930). Auch die Versuche an explantierten Kaltblüterembryonalteilen von HOLTFRETER gehören hierher (s. S. 341). Der Schwerpunkt der Untersuchung liegt dabei nicht in der Wachstumszone der Kultur, sondern im Inneren des Mutterstückes, welches vornehmlich Objekt der morphologischen Analyse ist. Es entstehen bei solchen Versuchen also keine „Reinkulturen“, sondern die normalerweise *in situ* vor sich gegangene, histogenetische Differenzierung läßt sich für kurze Zeit *in vitro* weiterverfolgen, wobei die Reaktion ganzer embryonaler Organsysteme im Mittelpunkt steht. Die auftretenden Tendenzen hat man als „organoides Wachstum“ bezeichnet, d. h. in explantierten Blastodermanlagen wurden vielfach Bildungsvorgänge beobachtet, die denen *in situ* nicht unähnlich waren.

Der hauptsächlichste Unterschied zwischen diesen Kulturen und den Reinkulturen besteht darin, daß jene Formbildungsprozesse in den Ganzexplantaten sich innerhalb einer lebendigen Membran, eines Stückchen Ektoderms oder einer einfachen Epithelschicht, welche sich neu um das ganze Explantat gebildet hat (MAXIMOW), abspielen. Sie stehen also in Korrelation zu lebendigen Geweben ihrer unmittelbaren Umgebung, während die Reinkulturen im Sinne CARRELS und HARRISONs dadurch im wesentlichen gekennzeichnet sind, daß sie ohne natürliche Hülle (s. S. 341 ff.) sind und in direktem Kontakt mit dem umgebenden, *künstlichen* Nährboden oder neuen künstlichen Lebensraum ganz allgemein stehen und *ihr Wachstum als eine Antwort oder Reaktion auf neue künstliche Bedingungen angesehen werden kann*, die der Experimentierende selbst schafft, gestaltet und die bekannt sind, die einer chemischen und physikalischen Analyse zugänglich sind.

Die Formbildungsunterschiede sind denn auch so ungeheuer, die Wachstumsprinzipien so unterschiedlich, daß beide Bildungen in der Kultur, die Reinkulturen CARRELS und die Ganzexplantate MAXIMOWs, HOLTFRETERS u. a. eigentlich nichts miteinander gemeinsam haben. Wir betonen nochmals den hauptsächlichsten Unterschied, der darin gelegen ist, daß hier Wachstum innerhalb lebendiger Membranen (ektodermales Epithel), dort aber Wachstum in einen neuen künstlichen Lebensraum hinein stattfindet, hier „kontrolliertes“ Wachstum vor sich geht, kontrolliertes oder von lebenden Nachbargeweben verschiedener Art beeinflusstes Wachstum, dort aber ein Wachstum, welches unabhängig von zellulären, induktorischen Einflüssen und Abhängigkeiten abläuft („unkontrolliert“ nach THOMSON).

WORTHER und WHIPPLE sahen Herz- und Somitenbildung bei Explantation ganzer Hühnchenblastoderme. FELL und STRANGWAYS

studierten das Verhalten ganzer Extremitätenknospen vom Hühnchenembryo und Gehörbläschen. Die genannten Forscher waren in der Lage, Formdifferenzen zwischen Diaphyse und Epiphyse, Vergrößerungen ganzer embryonaler Knochenstücke zu beobachten. Die Entwicklung ganzer Säugerembryonen (Ratten) haben in vitro GOSS, NICHOLAS, RUDNICK, JOLLY und LIEURE mit einer besonderen Durchströmungsmethode in Flaschen studiert. NICHOLAS (1938) verwandte ein ungerinnbares visköses Medium, welches Embryonalextrakt, Serum und Plasma enthielt. Die Flasche ist eine modifizierte Carrelflasche mit mehreren Armen, die mit einem gaszuführenden Apparat verbunden sind, welcher die Flüssigkeit in Bewegung setzt. Die verwandten Medien waren Rattenplasma (heparinisiert), Rattenplasma mit 0,8% NaCl, Rattenplasma mit Tyrodelösung, mit PANNETT-COMPTONScher Lösung, Rattenserum mit all den genannten Kombinationen, Rattenplasma mit Hämoglobin in verschiedener Konzentration, Meerschweinchen- und Katzenplasma mit den gleichen Kombinationen. NICHOLAS gibt an, daß Differenzierung und Wachstum des Explantates mit Gleichmäßigkeit bestimmte Zeit fortschreite. GOSS (1935) gelang es, in solchen Flaschen Rattenembryonen zu züchten im Alter von 9 Tagen.

MAXIMOW konnte in Kaninchenkeimscheiben typische und atypische Bildungen feststellen. Fragmente älterer Embryonen runden sich nach seinen Angaben ab und bedecken sich mit Epithel. Solange die Stückchen noch klein sind, lassen sie sich gut einige Zeit in vitro halten. Die in Gang befindliche Entwicklung geht ein Stück weiter. Längere Zeit jedoch lassen sich derartige Kulturen nicht züchten.

MAXIMOW hat sich vor allem in einer größeren Arbeit mit diesem Problem eingehender beschäftigt (1925). In Extremitätenexplantaten 12 Tage alter Säugerembryonen findet er in Querschnittsbildern knospenartige Ektodermverdickungen, dichtes Mesenchym mit Mitosen und Verflüssigungsherde (!). In Kopfexplantaten 10 Tage alter Embryonen beschreibt MAXIMOW Bildungen im Gehirn, die faltenähnliche Verwandlungen des ektodermalen Hirnbläschens darstellen mit *Detritus*, großen Phagozyten, welche in die Detritusmassen eindringen. Fast überall sind also zugleich *Nekrosen* in den zentralen Partien zu finden, während in den peripheren Teilen häufig Wachstum in mäßigem Ausmaße zu beobachten ist. Die Objekte wurden durchschnittlich 2—6 Tage lang in vitro gehalten. Ähnliche Versuche sind unternommen worden von THOMSON (Zehen vom Hühnerembryo), wobei sich unkontrolliertes Wachstum an den Schnittflächen ergeben haben soll. A. FISCHER züchtete sogenannte „intestinalen Organismen“. Der Autor versteht darunter folgendes: Dünndarmstücke von Hühnerembryonen, welche einige Tage alt waren und schon Mukosa gebildet hatten in situ, wurden umgestülpt, derart daß die Mukosaseite nach außen, also in Kontakt mit dem Medium, zu liegen kam. Es sollte auf diese Weise geprüft werden, ob das explantierte Fragment durch seine eigene Schleimhaut ernährt

werden könne. Das Fragment schwamm in einer Verflüssigungszone und konnte einige Tage lang gehalten werden. Es wuchs Epithel in Membranform um das Explantat herum, und es traten peristaltische Bewegungen auf. Ein muköses Sekret sei außerdem gebildet worden. Nach 4wöchentlicher Züchtung war epitheliales Gewebe überall gewachsen. Nach FISCHER waren die LIEBERKÜHNSchen Drüsen gut erhalten. Versuche über organoides Wachstum an Darmkulturen sind gemacht worden fernerhin von KAPEL, TÖRÖ u. a.

MARTINOVITCH (1938) konnte ganze Ovarien 16 Tage alter Rattenembryonen und solche neugeborener mit der Methode von FELL und ROBINSON züchten, und zwar in toto in Embryonalextrakt, Comptonlösung und Hühnerplasma. Im Verlaufe der etwa 4 Wochen währenden Züchtung fand MARTINOVITCH normale Differenzierung der Keimzellen *in 100% der Fälle* (!). In den Explantaten 16tägiger Embryonalovarien machen die Ovogonien alle Stadien durch und differenzieren sich schließlich zu normal großen, 50—55 μ Durchmesser aufweisenden Elementen. Lebende Säugereier sind auch von W. H. LEWIS gezüchtet und gefilmt worden.

Hierher gehören ferner die neueren Untersuchungen von BAKKER (1936), welcher in der Durchströmungsfläche DE HAANS verwundete Linsen untersuchte. In der Kultur bildete sich wie in situ eine neue Linsenkapsel an der Wundstelle. Die Linse blieb durchsichtig während der einige Wochen dauernden Explantation. Stoffwechsel, Mitosefähigkeit der Linsenepithelien und Wachstum waren erhalten.

h) Zusammenfassende Betrachtung über Gewebewachstum in vitro.

Die Unterschiede zwischen Wachstum in vitro und Wachstum in situ. — Die „sekundären Potenzen“. — Die in vitro nicht möglichen Formbildungen. — Wachstum und Altern der lebendigen Substanz. — Die Bedeutung der Wundflächen.

Eine wenig glückliche Konsequenz wurde vielfach gezogen aus den Ergebnissen der ersten beiden Jahrzehnte Gewebezüchtung: Es schien tatsächlich so, als ob die von der klassischen Anatomie aufgestellten strengen Regeln der morphologischen Zell- und Gewebsspezifität hinfällig werden sollten. Zellen bestimmter Art verwandeln sich in vitro leicht in andere Formen, deren genaue Identifizierung und Analyse oft auf Schwierigkeiten stößt. Während sich z. B. Schilddrüsenepithelien, Leberepithelien und Darmmukosaepithelien gut auseinanderhalten lassen, zeigen Kulturen solcher Gewebe in höheren Passagen ein im allgemeinen gleichmäßiges und einförmiges Epithel in Membranform mit vereinzelten tubulösen Auswüchsen, dem man es nicht mehr ohne weiteres ansieht, woher es stammt. Epithelzellen der Leber können amöboid werden, um ein weiteres bekanntes Beispiel zu nennen. Die Leberelemente in vitro bilden einen Verband, ohne diejenigen Besonderheiten und die Anordnung

zu besitzen, die Lebergewebe in situ auszeichnen; oder Epithelien können auch in höheren Passagen unter Umständen einen fibrozytären Charakter annehmen (A. THOMAS, JABLONSKI). Ganglienzellen gehen mitunter in der Wachstumszone morphologische Veränderungen ein (lamelläre Form). A. FISCHER behauptet im Anschluß an diese Fakta, daß bei der Diagnose der verschiedenen histologischen Elemente im Schnittpräparat nicht die einzelne Zelle maßgebend sei (eine Leberzelle kann man nach A. FISCHER nicht von einer Milchdrüsenzelle unterscheiden, wenn man dieselben allein betrachtet), sondern vielmehr die besondere Art der Anordnung der betreffenden Elemente, ihre äußere Organisation, ihr Systemcharakter, ihre Beziehungen bei der Beurteilung eine Rolle spielen. Ähnliches ist bekannt auch für die Karzinomzelle. Es verdient aber, darauf hingewiesen zu werden, daß ein solcher Standpunkt durchaus nicht von allen geteilt wird. W. H. LEWIS hat eine andere Auffassung in diesem Punkte.

Man schloß nun (E. MEYER), daß es ein beinahe überflüssiges Bemühen sei, weiterhin Anatomie zu betreiben und die speziellen strukturellen Eigenschaften der lebendigen Substanz eingehender zu berücksichtigen, sich um eine sinngemäße Deutung und Systematisierung der Formen zu bemühen. Denn es können doch alle Elemente letzten Endes ineinander übergehen, wie die Kultur angeblich zeige. Der Satz von DEMBROWSKY schien seine Bestätigung zu erfahren: Die Form als solche vermag nichts zu bewirken, sie ist etwas durchaus Passives, Ausdruck des Zustandes der lebendigen Substanz im gegebenen Augenblick. Man vertrat die Meinung, es genüge vollauf, die „biologischen und zellphysiologischen Phänomene“ zu untersuchen ohne Beziehung auf anatomische Besonderheiten. Diese Tendenz ist in der Tat weit verbreitet. Das gilt nicht nur für die Gewebezüchtung im besonderen, auch auf dem Gebiete der deskriptiven Histologie ist eine Wendung eingetreten, und man unterscheidet jetzt eine „statisch morphologische Einstellung“ von einer „physiologisch und dynamisch“ eingestellten Arbeitsrichtung.

Es besteht zweifellos eine Diskrepanz: einmal hat die klassische Histologie eine überaus verfeinerte Diagnostik und Systematik entwickelt, zum anderen kann kein Zweifel bestehen, daß die in situ beschriebenen Formenmannigfaltigkeiten in vitro nicht existieren. Doch das ist wohl zunächst eine hauptsächlich durch den augenblicklichen Stand der Technik bedingte Erscheinung, und die daraus sich ergebenden Konsequenzen sind andere, als sie oben wiedergegeben wurden (MEYER). Form und Struktur sind weder zufällige noch nebensächliche Phänomene (s. G. LEVI), und die Vorgänge in vitro fordern geradezu auf, im Sinne der von W. HIS gegebenen Problemstellung (s. S. 343) die Frage der Beziehungen zwischen Form und Umgebung zu bearbeiten, das Milieu auf seine induzierenden Effekte hin zu untersuchen, zu erklären, warum denn eigentlich die in situ existierende Strukturmannigfaltigkeit in vitro nicht zustande kommt.

Wir ziehen hier wiederum nur die Prozesse der Wachstumszone in den Kreis der Betrachtungen und schalten die Mutterstückstrukturen absichtlich aus. Nur die lebend sichtbaren und kontrollierbaren Phänomene werden berücksichtigt.

Es gelingt also nicht, in der Wachstumszone eine organotypische Struktur in dem Sinne zu erhalten, daß die Neubildung *in vitro* etwa ähnliche Anordnung ihrer Elemente zeigte wie das Ausgangsmaterial (Leber, Schilddrüse, Darmmukosa usw.). Die von RIENHOFF erhobenen Befunde der typischen Differenzierung von explantiertem Nierenmaterial stehen vereinzelt da, und vielleicht liegen hier analoge Verhältnisse vor wie in manchen Nervenkulturen (Spinalganglien), die durch besondere Auflockerung des Mutterstückes gekennzeichnet sind, wodurch die organotypische Struktur dort sichtbar wird, die bereits vor der Explantation existierte. Im allgemeinen zeigen die verschiedenen, organspezifischen, epithelialen Formationen *post explantationem* ein einförmiges, membranartiges Aussehen.

Für die Beurteilung der fraglichen Phänomene *in vitro* wäre folgendes zu berücksichtigen: Wir wissen, daß mit den ontogenetischen Abläufen die Potenz der lebendigen Masse nicht erschöpft ist. Das besagt die vielfach bestätigte Regel: Die prospektive Potenz ist größer als die prospektive Bedeutung, oder, anders ausgedrückt, heißt das, daß mehr und andersartige morphogenetische Möglichkeiten in einem bestimmten Gewebsteil liegen, als seine normale Entwicklung *in situ* enthüllen kann. Die Gewebekultur bestätigt diese Regel. Wenn isolierte weiße Blutzellen in der Wachstumszone schließlich fibrozytenähnliches Aussehen annehmen können (CARREL und EBELING, DE HAAN u. a.), dann haben mit anderen Worten die explantierten Leukozyten ganz andere Potenzen entfaltet, als ihrer prospektiven Bedeutung entspricht; oder wenn die andersartige Entwicklung eines explantierten Gehirnfragmentes, etwa Rautenhirnes, *in vitro* schließlich zu Bildungen führt, die mit den entsprechenden Strukturen *in situ* zunächst nichts weiter gemeinsam haben als die allgemeinen Grundeigenschaften der lebendigen Masse des betreffenden Organ-systems, nämlich die Tendenz zu kontinuierlicher Gitterbildung, so ist dies ebenfalls nur eine Bestätigung der oben genannten Regel. Die strukturelle Formierung in der Wachstumszone ist eine ganz andere als diejenige, welche von dem explantierten Fragment *in situ* geleistet worden wäre. Schließlich verschwindet nach einiger Zeit überhaupt die nervöse Struktur, und es entsteht ein ganz neues Gewebe, eine neuroepitheliale Membran, welche unter besonderen Umständen wieder nervöse Strukturen zu bilden vermag, wenn auch nur vorübergehend.

Die Kultur gibt uns mit anderen Worten die praktische Möglichkeit, Potenzen der lebendigen Masse ganz allgemein in einem neuen und künstlichen Lebensraume bei bekannter Nährbodenzusammensetzung zu erforschen. Dabei kommen bisher unbekannte Strukturen zustande, welche man nach dem morphologischen Verhalten der betreffenden Gewebe-

fragmente in situ nicht hätte erwarten können. Das ist eine wichtige allgemeine Feststellung. Es entfalten sich in vitro anderé Potenzen als in situ. Während die prospektive Bedeutung als etwas Ganzheitsbezogenes nur durch die normale Entwicklung, durch eine Art kinemato-graphischer Aneinanderreihung der verschiedenen Stadien zu erkennen ist, kommen in vitro jene Potenzen zum Vorschein, die in der normalen Entwicklung latent bleiben, die aber bei Restitutionsen auftreten, und die wir im Anschluß an DRIESCH als „sekundäre Potenzen“ bezeichnen wollen. Die „primären Potenzen“ bilden die Grundlage der normalen Histogenese in situ, die „sekundären Potenzen“ dagegen die Basis der Vorgänge in vitro.

Wir möchten diese „sekundären“ Potenzen nicht gleichbedeutend mit Entdifferenzierung im Sinne CHAMPYs setzen. Nach CHAMPY ist der wesentliche Charakterzug des Wachstums in vitro eine Entdifferenzierung zu einfachen, embryonalen Elementen. Alle Gewebezellen sollen sich so verhalten in vitro. Diese Terminologie erweist sich als wenig geeignet, um die fraglichen Vorgänge zu erfassen, wenn sie ohne weiteres verallgemeinert wird. Sie hat sich bereits als unzureichend erwiesen in einigen Fällen, nämlich hinsichtlich des Nervenwachstums in vitro und hinsichtlich des Muskelwachstums (G. LEVI, Goss, s. oben). Man sollte nicht von entdifferenzierten Zellen in vitro sprechen, sondern vielmehr von „Teilungszellen“ und „Arbeitszellen“ im Sinne K. PETERS. Das ist eine objektive Beschreibung, die nichts präjudiziert. Der Ausdruck „Entdifferenzierung“ nimmt vieles als gesichert voraus, was in Wirklichkeit noch recht undurchsichtig ist.

Dieser Sachverhalt, daß sich in vitro hauptsächlich die sekundären Potenzen entfalten, die in situ latent bleiben oder nicht verwirklicht werden können (unbegrenzte Wachstumsenergie), erfordert zunächst ein genaueres Eingehen auf die wesentlichen formbildenden Prinzipien in situ, soweit sie uns bekannt sind. Es wird dann eine bessere Beurteilung dessen möglich sein, was in vitro überhaupt zu erwarten ist, und was nicht gebildet werden kann. Wodurch unterscheidet sich also prinzipiell das Wachstum in vitro von demjenigen in situ?

Verschiedenwerden der einzelnen Teile in bezug aufeinander beim Wachsen und bei der Massenzunahme ist ein fundamentales Kennzeichen des Wachstums in situ überhaupt. Die *Reinkultur* dagegen, die sogenannte reinlinige Zellrasse ist, zunächst wenigstens, das hauptsächlichste Kennzeichen des Wachstums in vitro.

Vergleichen wir etwa ein Stück explantiertes Entoderm eines 3- bis 4tägigen Hühnerembryos in vitro mit dem Verhalten derselben Bildung in situ oder ein Stück explantiertes Ektoderm der Medianebene, das normalerweise sich an der Bildung der Medullarwülste beteiligt hätte, mit dem Verhalten der betreffenden Gewebeformation in situ: Warum bildet sich aus der entodermalen epithelialen Platte unter tubulösen Einstülpungen z. B. Leber oder Schilddrüse, wenn das fragliche Stück

aus der vorderen Darmwand der präsumptiven Anlage oder dem hypo-branchialen Epithel stammt, und im zweiten Fall Medullarfalten, in vitro aber nicht, sondern nur eine einfache Epithelmembran in beiden Fällen, wo sie doch offenbar dieselben günstigen Existenzbedingungen vorfindet, denn sie wächst sehr rasch, viel mehr, als sie in derselben Zeit in situ gewachsen wäre? — Das ist eine Frage, die durchaus nicht so einfach zu beantworten ist und mit Begriffen wie Ganzheitsbeziehungen nur wenig zu klären ist, zumal wenn wir an die strengen Regeln der Vererbung denken. Wir bemühen uns hier zunächst einmal darum, eine möglichst einfache und konkrete Deutung, eine mechanische Erklärung zu finden.

Das Verschiedenwerden der Teile in bezug aufeinander, welches das hauptsächlichste Charakteristikum der histogenetischen Differenzierung in situ ist und welches wir in vitro vermissen — denn hier bilden sich Reinkulturen — hat W. HIS folgendermaßen zu erklären versucht: Alle im Körper vorhandenen Anlagen wachsen, noch ehe sie spezifisch differenziert sind, in besonderer Weise, und zwar nicht den ursprünglichen Größenverhältnissen nach, sondern die einen wachsen rascher, andere langsamer, eine jede ihrem Gesetz gemäß. Zum Beispiel liegt beim Beginn der Entwicklung das Maximum der Wachstumsgeschwindigkeit in der Anlage des Gehirns und Rückenmarkes. Sie stuft sich dann in einer jene Anlage halbierenden Linie nach beiden Seiten zu symmetrisch ab. Die späteren Organe differieren also nicht nur betreffs ihrer gegenseitigen Lagerung von den primären, sondern auch hinsichtlich ihrer Massen. W. HIS bezeichnet das als „Prinzip des ungleichen Wachstums“. — Denkt man sich den Keim in eine Anzahl organbildender Keimbezirke zerlegt, wie das VOGT in seinem Anlagenschema angegeben hat, so würde nach der HISSCHEN Auffassung jedem Teilchen eine spezifische unterschiedliche Wachstumserregung innewohnen. Diese fraglichen Bezirke sind zunächst weiter nichts als Orte verschieden intensiven Wachstums, ihre Elemente zeichnen sich durch spezifische Teilungsgeschwindigkeiten aus. Es besteht mit anderen Worten ein räumliches Wachstumsgefälle in den einzelnen Abschnitten des embryonalen Körpers. Das Wachstumsgesetz hat die Wachstumsgeschwindigkeiten aller einzelnen Teile oder Punkte des Keimes als eine Funktion der *Lage*, der *Zeit* und der *äußeren Bedingungen* auszudrücken (W. HIS). Die unmittelbare Folge dieses räumlichen Wachstumsgefälles sind *Spannungen*, die zu den bekannten Faltungen führen. Der rascher wachsende Bezirk findet in der langsamer wachsenden Umgebung gewissermaßen einen festen Rahmen, einen Ausdehnungswiderstand, er erhebt sich infolgedessen blasenartig oder senkt sich in die Tiefe, stülpt sich ein. Infolge dieser, durch die ungleichen Teilungsgeschwindigkeiten der einzelnen Zellen in den besonderen Bezirken des Keimes auftretenden Differenzen im Ausmaß und den Faltungen entstehen Spannungen, deren exakte Analyse ein Problem äußerst verwickelter Natur ist. Von der Zeit ab, wo im Embryo oder in irgendeinem embryonalen Teil Ungleichheiten des Wachstums Platz gegriffen haben, *entspricht dessen augenblickliche Form der jeweiligen Gleichgewichtslage eines ganzen Systems elastischer Kräfte*. Diese von W. HIS ausgesprochenen Gedanken und Schlüsse führen uns zu den Unterschieden hin, die zwischen Wachstum in situ und in vitro bestehen. Diese theoretischen Überlegungen zeigen zugleich auch, warum das Wachstum in vitro bei der heute üblichen Methodik in gewisser Weise immer oder meistens fragmentarischen Charakter haben wird. Die Spannungen führen zu Faltungen, Biegungen, Knickungen, welche die Grenzen großer gemeinsamer Bezirke liefern (Prinzip der durchgehenden Grenzmarkierungen). Das ist die eine Möglichkeit der Erklärung

der fraglichen Vorgänge. Neuere Untersuchungen mittels neuer Methoden (vitale Farbmarkierung, W. VOGT) haben ergeben, daß das soeben erörterte HISSsche Prinzip des ungleichen Wachstums nicht die einzige Möglichkeit der verschiedenen Formenbildungen ist. Nach W. VOGT läßt sich z. B. die Entwicklung des hinteren Körperendes bei Amphibien auf zwei Weisen formal analysieren: „Entweder wird Material unter Vermehrung, Wachstum, Wucherung eines begrenzten Abschnittes neu aufgebaut, die Knospe also neu aufgesetzt, oder aber die Schwanzknospe und das hintere Körperende werden aus der Fläche gewissermaßen herausmodelliert, ausgestreckt wie ein Zapfen, den man aus plastischem Material knetend hervorzieht.“

Es sind also nach VOGT zu unterscheiden Formbildung durch Gestaltungsbewegungen und solche durch Apposition von neugebildetem Material. Als typische Gestaltungsbewegungen unterscheidet VOGT auf Grund seiner vitalen Farbmarkierungsversuche: Invagination, Konvergenz, Streckung. Diese von VOGT genauer beschriebenen Erscheinungen, daß Formen (s. Schwanzknospe) nicht einem örtlichen Wachstumszentrum, sondern einem Umlagerungsprozeß, einer Gestaltungsbewegung oder Materialverschiebung ihre Entstehung verdanken, stellen ein neues formbildendes Prinzip dar. Inwieweit solche Gewebsbewegungen auch in vitro eine Rolle spielen, entzieht sich zur Zeit noch unserer Kenntnis. Die hauptsächlich, vom Mutterstück ausgehende „Gestaltungsbewegung“ in vitro kommt zustande durch amöboide Tätigkeit der verschiedenen Protoplasten und dank einer „vis a tergo“ ausgehend von der Mutterstückrandzone als dem zunächst mitosenreichen Zentrum. Später ändert sich das insofern, als Mitosen hauptsächlich in den peripheren Zonen gelegen sein können.

Kehren wir nun nochmals zu den HISSschen Gedankengängen zurück. Nach W. HIS ist z. B. das Ektoderm der frühembryonalen Epoche eine elastische Platte von nicht unbedeutender Biegeelastizität, die sich infolge ungleichmäßigen Wachstums in Falten legt, und dasselbe gilt auch für kleinere embryonale Teilbezirke, z. B. Leberanlage an der entsprechenden Stelle der vorderen und hinteren Darmwand. Sie stellt auch zunächst eine elastische Platte dar wie überhaupt jede Drüsenanlage, die durch die bekannten Einstülpungen die tubulösen und azinösen Bildungen zustande bringt. Hier gilt nach HIS das gleiche Prinzip des ungleichen Wachstums. Diese Einstülpungen sind lediglich eine Funktion des Epithels und nicht eine solche des Bindegewebes, das darunterliegt. Denn zur Zeit der Medullarrohrentstehung z. B. gibt es noch gar kein zelliges Mesenchym, und dasselbe gilt für viele andere Bildungen. Trotzdem aber treten die Einstülpungen, Faltungen und Biegungen auf in derselben Weise wie in späteren Epochen, wo bereits zelliges Mesenchym unter dem Epithel gebildet worden ist. In vitro treten nun diese tubulösen oder azinösen Einstülpungen nicht ein. Was verhindert das Eintreten dieses so einfach erscheinenden Vorgangs in vitro?

HIS hat für die Keimscheibe folgendes Schema angegeben: Eine Platte mit etwa 9 Feldern (die Zahl sei ganz willkürlich herausgegriffen). Das mittlere Feld soll rascher wachsen als die 8 umgebenden. Die Folge ist ein blasenartiges Ein- oder Ausstülpfen des betreffenden Feldes. Die 8 langsamer wachsenden Felder der Umgebung wirken als Rahmen, der Widerstand leistet. Würde man eine Gewebekultur in gleicher Weise in Felder teilen, etwa ein explantiertes Ektodermstückchen, welches normalerweise in situ Medullarwulst gebildet hätte mit allen seinen sekundären Besonderheiten, so zeigt sich, daß hier der lebendige „Rahmen“, welcher Widerstand leistet, fehlt. Wächst wirklich ein Teilstück rascher, was im allgemeinen nicht vorkommt, denn das Wachstum ist ein allseitig gleich- und regelmäßiges, so werden Spannungsunterschiede ausgeglichen dadurch, daß das

Gewebe nach allen Seiten hin frei ausweichen kann. Es gibt hier keinen lebendigen „Rahmen“, keine „Grenzmarkierung“ im Sinne His'. Auch die Gewebekultur ist eine elastische Platte von gewisser Biegeelastizität. Durch geeignete Wahl des Materiales und des Alters kann man sich solche lebendige und elastische Platten herstellen und als Testobjekte für die verschiedensten mechanischen Prüfungen benützen (P. WEISS, BUNTING und EADES), lebendes noch ungestaltetes Material. WEISS konnte feststellen, daß in seinen Kulturen Wachstumsrichtung und Spannungsrichtung sich deckten. WEISS führt das zurück auf die durch die experimentell erzeugte Spannung bedingte besondere Orientierung des Mediums oder seiner „Ultramikronen“. Es entsteht im Verlauf der Spannungstrajektorien eine gleichsinnige Struktur des kolloidalen Mediums, eine Art Leitgerüst. Die Kette des Zusammenhanges zwischen Spannungs- und Wachstumsintensität ist nach WEISS folgende: Stärkere Spannung bedingt straffere Strukturierung des Mediums, welches wieder zur Folge hat schwächere kapillare Flüssigkeitsbindung. Folglich ist dort reichlicherer Wasserbezug des Gewebes möglich, und es resultiert gesteigertes Wachstum. Faltungen jedoch hat WEISS nicht beobachtet. Seine Untersuchungen beschränken sich lediglich auf die rein zellulären Phänomene hinsichtlich der Dichte. Die Kulturen von WEISS sind viel zu klein, die Wachstumszonen viel zu schwach entwickelt, um solche Phänomene zu erwarten, wie Faltungen. Die Methodik dürfte aber geeignet sein, für die genannten Probleme neue Erkenntnisse zu bringen.

Jene oben beschriebenen multiplen und komplizierten Spannungen fallen in vitro weg. Deshalb ist es auch verfehlt, organoides Wachstum, zunächst wenigstens, in der Wachstumszone zu erwarten; wo es beschrieben wurde, handelt es sich um Mutterstückstrukturen, die bereits (s. Abschnitt D, g) besprochen worden sind. Eine Leberanlage in situ oder ein Stück Medullarrohranlage in situ sind abgegrenzt, sie haben einen *lebendigen Rahmen*, in vitro aber haben wir *Wundflächen*. *Der Keim oder die Organanlagen haben natürliche Grenzen, das Wachstum in vitro aber findet keinen Ausdehnungswiderstand im obigen Sinne, es ist ein Wachstum in extenso, ein Wachstum nach Lösung aller Spannungen.* —

Zwei hauptsächliche Phänomene also sind es, die Wachstum in situ von Wachstum in vitro unterscheiden: Quantitative Wachstumsunterschiede einerseits im Sinne von W. HIS, welche zu Spannungen und Faltungen führen sollen, und Gestaltungsbewegungen, Materialverschiebungen, Umlagerungsprozesse im Sinne von W. VOGT andererseits. Beiden Vorgängen gemeinsam ist die sichtbar zum Ausdruck kommende Fähigkeit der lebendigen Substanz zu *Wachstumsbegrenzung*, zu örtlich differentem, lagemäßig spezialisiertem Wachstum, zu Gestaltungsbewegungen innerhalb gewisser Grenzen. Und damit ist das zentrale Problem, welches für diesen Vergleich in erster Linie in Betracht kommt, kurz gekennzeichnet: *Das Problem der Wachstumsbegrenzung*: Begrenztheit des Wachstums finden wir überall dort, wo Massenzunahme der lebendigen Substanz sich innerhalb eines bestimmten, erblich fixierten Organisationsplanes, innerhalb einer Ganzheit vollzieht. Dieser Organisationsplan ist dann aufgehoben, wenn die „sekundären Potenzen“ zu wirken beginnen und die Basis des Wachstums bilden, d. h. also bei den Vorgängen in vitro.

Wir haben es nach dem oben Gesagten *in vitro* zu tun mit rein zellbildenden und gewebbildenden Leistungen. Die 3. Periode DRIESCHs — die der spezifischen Organausbildung — fehlt. Es entstehen Reinkulturen, „lebendiges ungeformtes Material“. Ein wichtiges Prinzip ist zunächst nicht oder nur sehr unvollkommen verwirklicht, das Prinzip des ungleichen Wachstums, des rein quantitativen Verschiedenwerdens. Eine vielfach erörterte Frage ist die: Ist dieses Verschiedenwerden der Struktur infolge des bestehenden Wachstumsgefälles oder der Gestaltungsbewegungen allein durch die innere Organisation bedingt, also eine spezifische immanente Eigenschaft des Protoplasmas, oder ist es eine Funktion der auf die Zelle wirkenden, äußeren Reize und Kräfte? — Was ist mit anderen Worten Selbstdifferenzierung, und was ist abhängige Differenzierung? — Welche Abhängigkeiten sind es in erster Linie, die *in vitro* das Wachstum zu beeinflussen vermögen?

Diese letztere Frage ist die zentrale Frage der künftigen Gewebzüchtung, nachdem durch CARREL hauptsächlich gezeigt worden ist, daß quantitatives Wachstum *in vitro* durch die experimentelle Möglichkeit, Mitosen in beliebigem Ausmaße auszulösen, leicht erhalten werden kann. Die neue Aufgabe wird nun sein, qualitatives, d. h. differenziertes Wachstum im selben Ausmaße zustande zu bringen. Ein enormer wissenschaftlicher Fortschritt wäre erzielt, wenn es gelänge, in jedem beliebigen Augenblick einfache, proliferierende Reinkulturen indifferenten Charakters in differenzierte Formationen überzuführen. Eine ganze Reihe sekundärer Fragen und Probleme würden damit der Möglichkeit einer Klärung nähergebracht werden können.

Was ist das Wesen der Differenzierung? — Differenzierung setzt voraus immanente Polarität (RABL, HELD), die sich auswirkt in der verschiedenen und entgegengesetzten intraplasmatischen Ausbildung der einzelnen spezifischen Differenzierungsprodukte (Abb. 4). Myofibrillen und Neurofibrillen entstehen immer an den basalen Seiten der apothelialen Bildungszellen in Richtung der Hauptachse oder Nebenachse, Kutikularsäume dagegen bilden sich an den freien Seiten, desgleichen Pigment, Sinneshaare, Prosekret.

Differenzierung schließt aus Zellvermehrung oder ist unvereinbar damit. Nur die Zellen mit einem Ruhekern oder besser die sogenannten „Arbeitszellen“ sind differenzierungsfähig, die „Teilungszellen“ im Sinne PETERS dagegen nicht.

Differenzierung geht Hand in Hand mit Faltungen und dadurch bedingten Spannungen im Sinne von W. HIS und mit Gestaltungsbewegungen im Sinne W. VOGTs. Die histogenetische Differenzierung ist mit anderen Worten ein komplexer Prozeß, ein durch mannigfaltige Abhängigkeiten, Beziehungen und Bindungen gekennzeichnetes Phänomen. Die Alternative „Selbstdifferenzierung“ oder „abhängige Differenzierung“ *in vitro* ist dahingehend zu entscheiden, daß es „abhängige Differenzierung“ gibt, wie es auch „abhängige Mitosen“ gibt, d. h. im Sinne CARRELS bilden

Kernplasmakomplexe und Gewebeflüssigkeit — umgebendes Medium — eine funktionelle Einheit, und die chemische, physikalisch-chemische und biologische Zusammensetzung dieses Mediums bestimmen letzten Endes nicht nur den Grad der Lebensfähigkeit einer Kultur, sondern auch den „Ausdruck der immanenten Eigenschaften der Zellen“ (CARREL). — Andererseits kann man *in vitro* von Selbstdifferenzierung reden, wenn man den Ausfall aller jener Induktionen seitens der *in situ* gegebenen Nachbargewebe und -organe in Rechnung zieht und berücksichtigt: denn die Gewebe wachsen *in vitro* in einem zellfreien, homogenen Milieu, sie sind sogenannte „Reinkulturen“.

Differenzierung ist verbunden mit einem Verlust an weiteren Entwicklungsfähigkeiten, mit einem Verlust an biologischer Plastizität (W. H. LEWIS) und einer Beschränkung der Lebensdauer. Die Untersuchungen haben ergeben, daß die zu Beginn der Explantation auftretenden² spezifisch nervösen Differenzierungen zeitlich begrenzt wachsen und dann zugrunde gehen, die sekundär sich anschließenden Neuroepithelwucherungen aber zeitlich unbegrenzt wachsen (K. BAUER).

Wir sind heute in der Lage, embryonale oder erwachsene Fibroblasten unendlich lange Zeit zu züchten. Die explantierten Fragmente werden in gewissen Zeiträumen in neue Medien umgesetzt, wobei neue Wundränder angelegt werden, neuer Embryonalextrakt und frisches Plasma zugefügt werden. Auf diese Weise gelang es zuerst CARREL und EBELING, einen Fibroblastenstamm über nunmehr 27 Jahre am Leben zu erhalten. Wachstum, Zellteilung, morphologischer Aspekt der Kulturen sind nach so langer Zeit unverändert. Die Wachstumsenergie hat nicht im geringsten nachgelassen. Seitdem ist es oft versucht worden, mit derselben Methode Stämme von Reinkulturen über lange Zeiträume in einem Zustande dauernder Proliferation oder auch in einem Zustand des Erhaltens aller allgemeinen Lebensfunktionen ohne Proliferation zu züchten. Zwei Dinge sind es, die bei diesen langdauernden Versuchen besonders auffällig sind: die enorme Massenzunahme, die aus einem kleinen Fragment im Laufe der Jahre schließlich zu erzielen ist, wenn man alle geteilten Subkulturen zusammenrechnet, und zweitens die unverminderte und anscheinend grenzenlose Vitalität der Elemente *in vitro* im Gegensatz zu denen im Körper. Wir wissen heute mit Sicherheit, daß die Wachstumsintensität der Fibroblasten und Epithelien eine Funktion des Embryonal-extraktes ist und der geeigneten Dosierung dieser so wichtigen und zugleich problematischen Substanz (CARREL und EBELING). Dasselbe gilt bis zu einem gewissen Grade für die Autolysate bestimmter normaler erwachsener Gewebe und den Extrakt des Roussarkoms (s. später) (CARREL, LEWIS, DREW). Es sei hier ferner auf die Proteosenpräparate CARRELS verwiesen (s. unten). Diese zeitlich unbegrenzte Wachstumsenergie ist für die Fibroblasten und auch die Epithelien durch A. CARREL und seine Schule, durch W. H. LEWIS und M. R. LEWIS, P. ROUS, CHAMBERS u. v. a. nachgewiesen worden, und sie ist ein allgemein gültiges Gesetz für die

verschiedensten Körpergewebe des embryonalen oder erwachsenen Körpers. Auch das menschliche Gewebe gehört hierher. CARREL, EBELING und LOSEE haben Körpergewebe aus frischen Leichen Erwachsener herausgenommen und explantiert. Es erwies sich, daß auch für sie dieselben Regeln gelten (s. auch LAMBERT, HANES, A. FISCHER, CASTREN u. v. a.).

Aus diesem Sachverhalt ergibt sich, daß Gewebekulturen theoretisch unsterblich sind. Ähnliches gilt auch für die Protozoen, die sich durch fortgesetzte Vermehrung ad infinitum zu erhalten vermögen. Wir finden diese auffällige Tatsache also überall dort, wo die lebendigen Strukturen nicht einer bestimmten Organisation eingeordnet sind, wo keine Ganzheitsbeziehungen bestehen, keine Spannungen im Sinne HIRSH, wo für beständige frische Nährstoffzufuhr und -abfuhr der giftigen Stoffwechselprodukte in ausreichendem Maße gesorgt wird, wo rasch aufeinanderfolgende Mitosen ablaufen, Wundflächen permanent offen gehalten werden und gewisse wachstumsfördernde Stoffe in richtiger Dosierung zugeführt werden. Hält man Zellen in einem solchen Zustand permanenter Teilung, oder mit anderen Worten, gelingt es, die normalen Gewebezellen, gleichgültig ob differenziert oder nicht, in Teilungszellen im Sinne PETERS überzuführen, so werden sie theoretisch unsterblich. Kommen dagegen die Elemente zur Differenzierung im morphologischen Sinne, so ändert sich das Bild. Nervenulturen sind denselben Gesetzen unterworfen (s. oben). Die von L. ASCHOFF für das Altern der Individuen verantwortlich gemachte „Entmischung“ der kolloidalen Substanz, welche die Teilfunktionen des Organismus herabsetzen soll, tritt in vitro gewiß nicht ein. Vielmehr kann der sterbliche, lebendige Organismus in lebendige Teile zerlegt werden, die in vitro ihre morphologischen und funktionellen Eigentümlichkeiten den jeweiligen Bedingungen des neuen Lebensraumes anpassen. *„Der einfachste Weg, um den Tod der Gewebe zu verhindern, ist der, sie aus dem Körper herauszunehmen und in kleine Teile oder Fragmente zu zerschneiden und in ein entsprechendes Medium einzubetten“* (CARREL). Dieser so einfach erscheinende Sachverhalt wirft eine Reihe von Problemen auf, die das natürliche Altern der Gewebe und den natürlichen Tod betreffen und auf die hier hingewiesen sein soll. Die verschiedenen Theorien des Alterns sind bekannt. Nach CH. STOCKARD (1928) ist Altern gleichbedeutend mit Hemmung der Wachstumsenergie infolge chemischer Koordinationsstörung; die vielfach für den Prozeß des Alterns verantwortlich gemachte Insuffizienz endokriner Drüsen ist noch wenig geklärt. Nach STOCKARD hängt mit den Geschlechtsdrüsen der Prozeß des Alterns kausal nicht zusammen, wie überhaupt von *einem* endokrinen Organ (BROWN-SÉGUARD, VORONOFF, STEINACH u. a.) bzw. seiner Insuffizienz der fragliche Vorgang nicht herrührt.

Man spricht von der Ablagerung giftiger Stoffwechselprodukte (VEARL), die nicht entfernt werden, oder von denen sich die Zellen nicht mehr freimachen können. Auf diese Weise werde ihre Tätigkeit

letzten Endes lahmgelegt (RÖSSLE, MÜHLMANN, HARMS). Damit sind verbunden die im Alter zu findenden feinen Pigmentkörnchen in den verschiedensten hochdifferenzierten Geweben (Ganglienelemente, Muskulatur). Ein lipoides Alterspigment verursache schließlich das Altern. Änderungen der Kolloide (SCHADE, RUZICKA), Abnutzung der spezifisch funktionierenden Elemente und vieles andere mehr wird für den Vorgang des Alterns verantwortlich gemacht. Sicherlich bestehen diese Annahmen zu Recht. Es ist eine weitere Annahme, daß Differenzierung unbedingt mit Altern und Tod verbunden sei. Die Organexplantation wird in diese Frage vielleicht noch einmal Licht bringen. Die Ursache des Fehlens jeder Alterserscheinung in Kulturen mit permanentem Wachstum liegt in erster Linie in der ständigen Zufuhr frischer Nährstoffe und der Abfuhr giftiger Stoffwechselprodukte, in der Kleinheit des Fragmentes, dem günstigen Verhältnis von lebendiger Masse zu Gewebeflüssigkeit — Medium. Es ist bereits darauf hingewiesen worden, daß in situ nach PÜTTER von dem System Zelle-Gewebeflüssigkeit 83 % auf die Zellen und 17 % auf das Außenmedium fallen. Nehmen wir in vitro einmal roh geschätzt das umgekehrte Verhältnis an, was aber eher zu niedrig als zu hoch gegriffen sein dürfte, so ergibt sich für das Verhältnis Zelle:Außenmedium 17:83 % oder etwa 1:5. In Wirklichkeit (Flasche) liegt aber das Verhältnis noch günstiger (1:10 bis 1:100). Daraus ergibt sich mit anderen Worten: Durch diese Veränderung des Lebensraumes für die kernhaltige protoplasmatische Masse im Sinne einer relativen Zunahme des Außenmediums werden Schädigungen chemischer (spezifische oder unspezifische Stoffwechselprodukte) oder mechanischer Natur (Stoßwirkungen, gegenseitige Spannung) oder reizphysiologischer Art auf ein Minimum reduziert oder aufgehoben. Die Lösung jeglicher Gewebespannung im Sinne W. HIS' ist in erster Linie als Ursache des zeitlich unbegrenzten Wachstums anzusehen und des Fehlens oder Ausbleibens von Alterserscheinungen neben den anderen erwähnten Faktoren.

Wir fassen also zusammen: Die in vitro vorhandene Fähigkeit zu zeitlich unbegrenztem Wachstum oder Leben ist das hauptsächlichste und interessanteste Unterscheidungsmerkmal, welches die Phänomene in der Kultur gegenüber denen im ganzen Körper kennzeichnet. Die Ursache dieses Verhaltens sehen wir in 1. dem günstigen Verhältnis von lebendiger Masse zum "milieu intérieur", 2. der damit verbundenen guten Diffusion der Nährstoffe oder Abatmung oder Ausscheidung oder Entfernung der katabiotischen Produkte, 3. dem Embryonalextrakt, 4. der Lösung aller Spannungen (W. HIS), 5. den Wundflächen und ihrer permanenten Offenhaltung.

Damit kommen wir zum letzten Punkt, der Wachstum in vitro gegenüber dem in situ kennzeichnet:

Der Ort, von dem das Wachstum in vitro ausgeht, ist die Schnittwunde des Explantates. Verpflanzt man ein Fragment, welches nur an einer Seite Schnittwunden hat, sonst aber eine natürliche Hülle, z. B.

Epikard bei Explantation kleiner embryonaler Herzspitzen, so tritt aktives Wachstum nur ein an den Wundflächen. Dort, wo intaktes Perikard sitzt, wächst nichts. Die Wunde ist also der Ausgangsort des Wachstums in vitro, gleichgültig ob embryonales Material explantiert wird oder solches erwachsener Organismen. Die Zellproliferation in das Medium hinein setzt mit anderen Worten voraus eine Gewebsschädigung, in diesem Falle eine solche mechanischer Art.

Aus den Vorgängen der Regeneration und Wundheilung in situ (A. BIER, F. MARCHAND, v. GAZA) ist geschlossen worden, daß die damit Hand in Hand gehenden entzündlichen Gefäßveränderungen eine gewisse Rolle bei dem neu einsetzenden Wachstum zu spielen haben. Diese Gefäßveränderungen (Hyperämie, Exsudation, Anhäufung von Leukozyten im Gewebe) sollen irgendwie im kausalen Zusammenhange mit der Regeneration stehen. Neben diesen Gefäßalterationen entzündlicher Natur werden die durch die Gewebeschädigung freigesetzten Zerfallsprodukte des kernhaltigen Protoplasmas als sehr wesentliche Bedingung für das Ingangkommen des neuen Wachstums angesehen. Solche Gewebserfallsprodukte wirken in gewisser Hinsicht als formativer Reiz (A. BIER, MARCHAND, v. GAZA). Man unterscheidet auslösende Komplementärbedingungen (v. GAZA) und innere Faktoren oder Bedingungen, worunter vor allem die immanente Wachstumsenergie zu verstehen ist und die allgemeinen Lebenseigentümlichkeiten der lebenden Substanz überhaupt. Das infolge der Gewebeschädigung nur ungenügend mit Blut und damit auch mit Sauerstoff versorgte Gewebe befindet sich in einem Zustand des „Gewebshungers“ (KORNFELD), und ein solcher Zustand soll mitosenfördernde Wirkungen haben. Das gilt für die allgemeine Regeneration, die nach Wundsetzung eintritt. Die durch die Schädigung zugleich auch hervorgerufene Unterbrechung der Strombahnen wirkt sich aus. Es kommt zu Änderung des Gewebsstoffwechsels, zu Anhäufung schädlicher Stoffwechselprodukte (Gewebisasphyxie).

Mechanische Gewebeschädigung und dadurch hervorgerufene Zerfallsprodukte sowie die infolge der allgemeinen Unterbrechung der bis dahin geschlossenen Strombahnen (Blut- und Lymphgefäße) sich bildenden giftigen Stoffwechselprodukte und die unzureichenden Ernährungsverhältnisse sind die wichtigsten neuen äußeren Bedingungen an der Wundstelle. Das gilt für die Verhältnisse in situ und auch in vitro. Der Gewebserfall kommt nach v. GAZA zustande durch die infolge der Gewebeschädigung (Schnittwunde in unserem Fall) freiwerdenden Zellfermente. v. GAZA nennt das Gewebsautolyse und unterscheidet davon die Isolyse, welche durch gewebe-eigene Fermente zustande komme. Die Gewebsheterolyse entstehe durch die fermentative Wirkung gewebsfremder Elemente (Leukozyten). Je parenchymreicher das Gewebe, um so größer sei der Fermentgehalt. Der Fermentreichtum ist also proportional der Anzahl der verletzten Parenchymzellen. Dieser Zerfall sei in der Wunde in situ der gleiche wie in vitro (BRANDI, v. GAZA, SEULBERGER). Bei zellarmen Geweben spiele die Autolyse eine untergeordnete Rolle (v. GAZA). Die Isolyse kommt vor bei physiologischen Umbauvorgängen, z. B. beim muskulären Umbau und beim Nervengewebe (Sarkolyse und Neurolyse). v. GAZA beschreibt diese Vorgänge folgendermaßen: Zeitlich sehen wir hintereinander den Zerfall der einst gebildeten kontraktile Substanz, die Wucherung der Bildungszellen, Auflösung und Resorption (Phagozytose) der Zerfallsstoffe und schließlich die Neubildung der kontraktile Substanz. Diesem zeitlichen Nachfolgen muß ein kausalgenetischer Zusammenhang zugrunde liegen. Der Zerfall des Plasmas ist das Primäre. Die Zerfallsstoffe lösen

dann als gewebspespezifischer Reiz die Wucherung der Sarkoplasten aus. SCHAFFER hat bezüglich des peripheren Nervensystems Abbau- und Umbauvorgänge beschrieben, die nach v. GAZA als isolytische Prozeße aufzufassen sind (Neurolyse). FORSSMANN hat von positivem Neurotropismus der zerfallenen Nervensubstanz gesprochen, der auf die neu auswachsenden Nervenfasern einwirkt. Nach SCHAFFER gehen bei der Nervenentwicklung Rückbildungsvorgänge und Neubildungsvorgänge Hand in Hand, welche in Analogie mit der Resorption des Knochengewebes und mit der Sarkolyse zu setzen seien. Beim Knochen schwinden alte Lamellensysteme und werden neue gebaut. Die Abbauprodukte der Grundsubstanz geben den spezifischen Reiz für die Regeneration. Die heterolytischen Prozesse werden eingeleitet von Leukozytenfermenten, im besonderen. Die Bedeutung dieser Elemente im Wundheilungsprozeß wird allgemein anerkannt (CARREL).

Kehren wir zur Gewebekultur zurück, so ergibt sich aus dieser kurzen Betrachtung der Ergebnisse der Regenerationsforschung bei der Wundheilung *in situ*, daß der Nährboden für das wachsende Gewebe (A. BIER) von größter Bedeutung ist (CARREL). Und hier auf diesem Gebiete liegt die eigentliche und wichtigste Aufgabe der Explantationsforschung.

Die Abhängigkeit des Wachstums von gewissen chemischen Reizstoffen ist von verschiedener Seite nachgewiesen worden. GLEY, HABERLANDT sprechen von Harmozonen und Wundhormonen und verstehen darunter alle jene Stoffe, die bestimmte morphogenetische Wirkungen entfalten und welche Gewebszerfallsprodukte seien (GUDERNATSCH). CARREL nennt diese Stoffe Trepone, BURROWS Archusia. Viele und zum Teil entgegengesetzte Theorien sind aufgestellt worden, um die Wirkung gewisser chemischer Reizstoffe zu erklären. Der Begriff „formativer Reiz“ von VIRCHOW hat neuen Inhalt bekommen. Betrachten wir nun die Ergebnisse der Explantationsforschung in bezug auf diese besonderen Fragen. Welches sind die Bedingungen des Nährbodens für Zell- und Gewebewachstum *in vitro*?

i) Die Bedeutung des Nährbodens.

α) Die protektiven Medien.

Unter protektiven Medien versteht man alle jene, die frei von „Trepone“ oder von spezifischen, wachstumsfördernden Substanzen sind (frei von Embryonalextrakt und anderen Gewebeextrakten), oder anders ausgedrückt: es lassen sich unter diesem Begriff alle jene Substanzen zusammenfassen, in welchen Explantate über gewisse Zeit zu leben vermögen, ohne permanentes Wachstum zu zeigen. Es gibt keine Nährstoffe oder Reizmittel in diesen protektiven Medien, welche sich direkt an die Teilungsfähigkeit der Zellen wenden. Diese protektiven Medien sind N-frei oder N-haltig. Plasma und Serum haben hochgradig protektive Eigenschaften. Damit soll nicht ausgeschlossen sein, daß geringes Wachstum in Plasma und Serum möglich ist. Nach A. FISCHER (1929) sind unter den Bestandteilen des Blutplasmas einige, die als Nahrung für die Gewebe dienen können. Im allgemeinen können aber

die Gewebe die Proteine beider Substanzen nicht oder nur wenig verwerten. Die Explantate wachsen entweder überhaupt nicht, bleiben aber am Leben, oder sie zeigen zeitlich beschränktes Wachstum (CARREL). Wächst eine Kultur in solchen Medien, dann geschieht dies auf Kosten der Nährreserven, die vor der Explantation in situ in dem betreffenden Stück enthalten waren.

CARREL unterscheidet streng Wachstum in vitro, welches auf Kosten der im Medium vorhandenen Nährstoffe vor sich geht, und Wachstum auf Kosten der in den Zellen vorhandenen Residualstoffe und -energie. Nur für die ersteren Vorgänge will er das Wort „Kultur“ im eigentlichen Sinne angewandt wissen. G. LEVI nimmt gegen die CARRELSche Auffassung Stellung, weil seiner Meinung nach die These der „Residualenergie“ nicht erklären könnte das intermitotische Wachstum der Elemente nach der Teilung in protektiven, N-freien Medien, welches die ursprüngliche Zellgröße wieder zustande bringt. Es gehe also auch in solchen protektiven Lösungen eine echte Synthese von Protoplasma vor sich. — Die CARRELSche Unterscheidung wird aber mit diesem Einwand nicht erschüttert und ist ein wichtiges Prinzip der Einteilung und Unterscheidung der verschiedenen Vorgänge in vitro. Das Residualwachstum der einzelnen Gewebsarten (Bindegewebe, Epithel u. a.) ist von EBELING, PARKER, A. FISCHER u. a. bestimmt worden, es beträgt etwa 5—12 Tage.

W. H. LEWIS und M. R. LEWIS haben einige N-freie Salzlösungen auf ihren protektiven Einfluß auf die Kulturen untersucht. Hühnermesenchym-, Endothelelemente wandern und überleben einige Tage in einer einfachen Kochsalzlösung (0,75—0,9%). LEWIS hat folgende Lösungen hauptsächlich verwandt: Lockelösung, Ringerlösung, Tyrodelösung. Große Makrophagen, Trachealknorpel, Nierenepithelien, glatte Muskelzellen leben in Lockelösung bei 37° F bis zum Ende des 10. Tages. Epithelien der Speicheldrüsen, Blase, Trachea und Zunge überleben 192 Stunden, Endothel, kleine und große Lymphozyten 168 Stunden, Lungeneithelien 144 Stunden, Leukozyten und KUPFFERSche Sternzellen 120 Stunden; Gehirnmakrophagen, Pankreaszellen, Leber- und Sertolizellen wurden 96 Stunden lang erhalten. Rote Blutzellen, Bindegewebe, Follikelzellen der Ovarien, Uterusepithelien überlebten 48 Stunden, Nebennierenzellen 24 Stunden. Nerven-, Skelettmuskel- und Herzmuskelzellen überleben nach LEWIS weniger als 24 Stunden. Diese Befunde erhielt LEWIS, wenn er die Kulturen in niedrigen Temperaturen (37° F) züchtete. Die Zellwanderung ist größer, und die Mitosen sind zahlreicher, wenn Locke bouillon-Dextroselösung verwandt wurde. Sie enthält nach LEWIS:

NaCl	0,9 %	} 80 % + Hühnerbouillon 20 % + Dextrose 0,25—1 %.
CaCl ₂	0,025 %	
KCl	0,042 %	
NaHCO ₃	0,02 %	

Hier liegt aber keine einfache protektive Lösung mehr vor, denn in solchen kombinierten Lösungen hat LEWIS Dauerwachstum erhalten. Glukosal und Tyrodelösung gehören weiterhin hierher. PARKER konnte

in solchen Lösungen Gewebefragmente in einem Zustande des Überlebens ohne Wachstum erhalten. Auch das Plasma und das Serum sind, wie schon gesagt, zu den protektiven Medien zu rechnen, denn es ist bekannt, daß Fibroblasten und Epithelien sowie andere Körpergewebe nur sehr wenig proliferieren, wenn sie ausschließlich in Serum oder Plasma gezüchtet werden. Sie lassen sich aber über gewisse Zeit in solchem Medium am Leben erhalten, während in N-freien Medien die Lebensdauer kurz ist. Die Elemente sind nicht oder nur in geringem Maße imstande, die im Serum enthaltenen Proteine zu verarbeiten und sich zu vermehren. Die Leukozyten jedoch nehmen eine Sonderstellung ein (s. CARREL). Nach A. FISCHER müssen wenigstens drei Faktoren gegeben sein, damit die Aktivität eines Gewebes sich voll entfalten kann: Die geeignete Konzentration der wachstumsfördernden Stoffe im Medium und die der wachstumshemmenden Stoffe, ferner die inhärente Zellaktivität. „Die inhärente Zellaktivität“ oder Aktivität eines Gewebes ist die in einem protektiven, nährmaterialfreien Medium sichtbar werdende (A. FISCHER). Sie ist identisch mit der sogenannten Residualenergie.

BAKER und EBELING (1938) haben künstliche Medien von hochgradig protektiver Fähigkeit zusammengestellt. Sie enthalten im Vergleich zu den in den Abschnitten zu beschreibenden Mitteln keine Trepnone. Der Ausdruck „protektiv“ ist nicht ganz exakt, wenn damit nur solche Nährböden verstanden werden sollen, die nicht wachstumsstimulierende Effekte haben, also nur die allgemeinen Lebensvorgänge aufrechtzuerhalten vermögen. Wachstumsfördernde Medien sind natürlich auch „protektiv“, jedes Medium, welches Leben außerhalb eines ganzen Körpers gestattet, ist „protektiv“. Der Begriff „protektives“ Medium hat sich aber eingebürgert für solche Nährböden, welche nur die allgemeinen Lebensvorgänge aufrechterhalten und keine Trepnone enthalten. In diesem Sinne wird er hier verwandt.

Die neuen, von BAKER angegebenen Mittel sind folgende:

Verdautes Blut (Pankreatinverdauung) mit 30 oder 60 mg-% Stickstoff.
Serum 2 oder 3 %.
Tyrodelösung.

Weiterhin:

Verdautes Blut (wie oben): auf 100 ccm Tyrode:

Zysteinhydrochlorid	9 mg
Insulin	0,1 Einheit
Thyroxin	0,001 mg
Hämin	0,004 mg
Vitamin A (+ Spuren Vitamin D)	100 Einheiten
Vitamin B ₁	0,1 γ
Vitamin B ₂	3,4 γ
Ascorbinsäure	0,3 mg
Glutathion	1,2 mg
Glukose	200,0 mg
Kaliumjodid	0,13 mg
Tyrodelösung	100 ccm

Die anderen Medien verhalten sich ähnlich. Als Besonderheiten sind ihnen noch zugefügt: Tryptophan, Harnstoff, Spuren von Wittepepton, Glyzerin, Phosphate, Thymonukleinsäure, Antuitrin, Adrenalinchlorid und besondere Hormonpräparate der Hypophyse („Pitressin“) und der Nebennierenrinde („Eschatin“). Wesentlich ist, daß es EBELING gelang, in solchen Medien Herzexplantate bis zu 60 Tagen am Leben zu erhalten, ohne daß Wachstum eintrat. Überpflanzte er dann nach 60tägigem Aufenthalt die Explantate in trephonhaltige Medien, wurde das Wachstum wieder in Gang gebracht (EBELING 1938).

In den protektiven Medien oder in den Medien ohne Trephone haben wir also, abgesehen von anderem, ein sehr wichtiges Mittel zur Verfügung, um die immanente Vitalität eines Gewebsfragmentes zu prüfen. Diese Vitalität — gekennzeichnet durch das Residualwachstum — ist nach CARREL abhängig von dem Ernährungszustand, in dem das Gewebe sich vor der Explantation befand.

β) Plasma und Serum.

Blutplasma und Lymphplasma liefern den soliden dreidimensionalen Stützapparat, die sogenannte solide Phase des Nährbodens. Eine sehr wichtige Feststellung der Gewebezüchtung war die Tatsache, daß die in vitro proliferierenden Elemente einer Stütze bedürfen; entweder benützen sie die Deckglasoberfläche in allen jenen Kulturen, welche eine flüssige Nährbouillon enthalten (s. W. H. LEWIS). Dieser zweidimensionale Stützapparat genügt, um Zellwachstum über lange Zeit zu erhalten, wie die Erfahrungen von LEWIS gezeigt haben. Seitdem ist das Verfahren oft angewandt worden. Der ideale dreidimensionale Stützapparat aber ist das Fibringerüst des Blutplasmas, welches durch geeignete Mittel in vitro zur Gerinnung gebracht wird. Züchtet man in flüssigem Plasma, so ergeben sich dieselben physikalischen Verhältnisse wie in einer Kultur mit Nährbouillon. Kulturen, die jeglichen Stützapparates entbehren, die also mitten in einem hängenden Tropfen angesetzt werden, ohne Berührung mit einer Unterlage zu haben, können Zellen auswandern lassen, die sich jedoch abrunden und bald zugrunde gehen.

Als Ersatzmittel für Blutplasma hat man mit Erfolg Watte, fein zerschnitten, angewandt. An den feinen Waffefasern wachsen die Gewebezellen entlang. Versuche mit Gelatine, Agar-Agar haben nicht den gleichen Erfolg gebracht. Keines dieser Mittel erreicht an Güte das Fibringerüst des Blutplasmas (HARRISON, BURROWS, P. ROUS, A. FISCHER, LEWIS und LEWIS, LOEB, INGBRIGTSEN). Die Versuche von INGBRIGTSEN, der Wachstum in Agar-Agar beobachtet hat (desgl. LEWIS), deutet FISCHER dahingehend, daß es sich dabei um Oberflächenwachstum und nicht um infiltrierendes Eindringen in Agar-Agar gehandelt habe. Hollundermark, Seidenflor, Haare (CARREL) sind ebenfalls versucht worden, um einen Ersatz für das Blutplasma zu finden. Die heute herrschende und vorwiegend angewandte Technik aber benützt

das Blutplasma oder harte Oberflächen (Glas, Glimmer, Zellophanpapier, Filmmaterial) als soliden Stützapparat für die Kultur.

A. FISCHER hat eine besondere Methode angegeben, um das Blutplasma ohne Zufügung von thrombokinasehaltigen Gewebeextrakten zur Gerinnung zu bringen. Zu diesem Zwecke wird das im Plasma schon vorhandene Thrombin isoliert dargestellt und dann der Kultur in bestimmter Dosis zugesetzt. Das von FISCHER angegebene Verfahren ermöglicht die Gewinnung eines absolut wuchsstofffreien Thrombins, was für gewisse Untersuchungen (Bestimmung der Residualenergie) von Wichtigkeit ist.

Die Funktion des Plasmas *in vitro* ist also eine vorwiegend mechanische. Wir schließen uns hier hauptsächlich den Anschauungen CARRELS und seiner Schule an und lassen die mannigfaltigen anderen Theorien über die vermeintliche Funktion und das Verhalten des Fibrins *in vitro* außer Acht. Der Gehalt des Plasmas an Nährstoffen für das Explantatgewebe ist jedenfalls nur gering (A. FISCHER). Die Gewebezellen werden nicht zum Wachstum angeregt durch die Bestandteile des Plasmas, es bestehen keine stimulierenden Effekte, wie CARREL gezeigt hat. Kulturen, die in einem Plasmakoagulum gezüchtet wurden, welches vorher mit Formol fixiert und anschließend gewaschen worden war, wuchsen bei Trephonzusatz in genau derselben Weise wie die Kontrollkulturen, die im gleichen Plasma ohne Formolbehandlung angesetzt worden waren. Serum hat einen wachstumshemmenden Einfluß, der durch den Lipidgehalt bedingt ist (CARREL). Der hemmende Einfluß des Plasmas ist nach CARREL und EBELING weiterhin bis zu einem gewissen Grade abhängig vom Alter des Tieres, von dem es stammt. Das Wachstum ist größer im Plasma jüngerer Tiere als in dem älterer. CARREL und EBELING haben in ausgedehnten Untersuchungen zu dieser Frage bekanntlich Stellung genommen. Wenn zwei Fragmente eines alten Stammes in jungem Hühnerplasma und in altem Hühnerplasma gezüchtet wurden ohne Zusatz wachstumsfördernder Substanzen, so ergaben sich die interessanten Befunde, daß das Wachstum des Fragmentes in dem Plasma des älteren Huhnes viel früher aufhörte als das in dem des jüngeren Tieres. Die durchschnittliche Lebensdauer der Kulturen im Plasma alter Tiere gibt CARREL an mit nur 19% derjenigen, die im Plasma junger Tiere gezüchtet wurden. Das führte zur Aufstellung der wichtigen Regel, daß das Wachstum der Kulturen im allgemeinen umgekehrt proportional sei dem Alter des verwendeten Blutplasmas, d. h. dem Alter des Tieres, von dem es herkommt. Wie das Blutplasma so hat auch das Serum keinerlei stimulierende Effekte. Die gegenteilige wachstumshemmende Wirkung dieser Substanz ist bekanntlich eine für die Züchtungstechnik sehr wichtige Eigenschaft, die es gestattet, Wachstum *in vitro* in beliebigem Ausmaße zu steuern (CARREL, EBELING, A. FISCHER).

GAILLARD (1938) hat hinsichtlich des Embryonalextraktes ähnliche Beobachtungen erhoben. Gewebe des Hypophysenvorderlappens sollen

angeblich in Medien, die Embryonalextrakt jüngerer Keimlinge enthalten, weniger gut gedeihen, während nach GAILLARD Züchtung in Medien mit Extrakt älterer Embryonen und im Blutplasma junger Tiere bessere Resultate ergab. Das würde mit anderen Worten heißen, daß für Embryonalextrakt das Umgekehrte gilt wie für das Plasma. Ich kann diese Angaben GAILLARDs nicht bestätigen, jedenfalls treffen sie nicht ohne weiteres zu für andere Gewebe. Vielleicht macht Hypophysenvorderlappen eine Ausnahme.

Die Lymphozyten sind nach CARREL imstande, einige Substanzen des Serums und Plasmas zu verwerten. Diese Elemente können in solchem Medium lange gezüchtet werden, wobei sie auswandern unter Erhaltung ihrer normalen Struktur und Eigenschaften. Sie dringen weit in das Kulturmedium hinein. Ihre Residualenergie in einem stickstofffreien Medium dauert nicht länger als 9—10 Tage. Wenn sie also in Serum länger gehalten werden können, so ergibt sich, daß sie imstande sein müssen, die Serumproteine zu verwerten. Sie bilden sogar wachstumsfördernde Substanzen aus dem Serum, wie CARREL nachweisen konnte. Wenn eine Milzkultur in einer Flasche vom Typ D 3,5 in gewisser Entfernung von einer Fibroblastenkultur angesetzt wird und Serum als Medium verwandt wird, so ergibt sich folgender interessante Befund: Die Fibroblasten wachsen sehr langsam und mäßig und nach einigen Tagen überhaupt nicht mehr, da ihre residuale Energie erschöpft ist. Die Leukozyten dagegen dringen in das Medium hinein und gelangen in die Nachbarschaft der Fibroblastenkultur. In dem CARRELSchen Versuch waren nach 9 Tagen die Fibroblasten wenig gut erhalten und zeigten beginnende regressive Veränderungen. Das Bild änderte sich jedoch von dem Augenblick ab, wo die Leukozyten die Fibroblasten erreicht hatten. Sie begannen jetzt zu proliferieren und zeigten plötzlich eine Änderung sowohl ihres Aussehens wie ihres allgemeinen biologischen Verhaltens. Die Leukozyten haben also aus dem Serum stimulierende Stoffe hergestellt und sie den Fibrozyten zugeführt. Dieser sehr exakte Versuch beweist das. CARREL nennt bekanntlich jene wachstumsstimulierenden Stoffe, die von den Leukozyten produziert werden, Trepone. Nach seiner Theorie der Wundheilung, die im Gegensatz zu der RIBBERTSchen Spannungslehre steht, ist der biologische Sinn und Zweck der Exsudation bei den entzündlichen Gefäßveränderungen, daß die Leukozyten durch Produktion von Treponen gewissermaßen einen formativen Reiz ausüben auf die Gewebezellen und dieselben zur Regeneration anregen. Ähnliche Effekte wie CARREL erzielte T. TERNI angeblich mit Samenzellen, die sogar in Fibrozyten eindringen sollen in vitro!

Ein sehr wichtiges Phänomen ist die durch die Gewebezüchtung gefundene und dauernd neu bestätigte Tatsache, daß Wachstum in heterologem Plasma möglich ist. Herzmuskelzellen vom Hühnerembryo wachsen in Hühnerplasma und Säugerplasma (Meerschweinchen, Kaninchen) gleich gut, und umgekehrt gedeihen Säugergewebe und menschliches

Gewebe in Hühnerplasma wie in den verschiedensten Säugerplasmen (CARREL). Dieses Faktum ist wichtig und eigenartig angesichts der in der Chirurgie so vielfach bestätigten Erfahrung, daß heteroplastische Transplantate niemals lebend einheilen. Bekanntlich heilen autoplastische Transplantate und allenfalls noch homoioplastische Transplantate lebend ein. In vitro aber sind die Gewebezellen befähigt, auch aus heterologem Plasma die für Stoffwechsel und Wachstum notwendigen Stoffe zu synthetisieren. Auch in reinem Plasma oder Serum gehen die Gewebekulturen nicht zugrunde, sondern in solchen protektiven Medien können die allgemeinen Lebensfunktionen unter Einschränkung des Wachstums sehr lange Zeit aufrechterhalten werden. Bis zu einem gewissen Grade ist auch geringgradiges Wachstum möglich. So lassen sich Kieseligurgranulomfragmente vom Meerschweinchen oder Gehirnfragmente vom Meerschweinchen in Hühnerplasma züchten und umgekehrt Fragmente von Hühnergewebe in Meerschweinchenplasma. Die Frage ist nun die, ob solche Gewebezellen in heterologen Medien ihre Charakteristika, die ihre Zugehörigkeit zu einer bestimmten Tierpezies kennzeichnen, beibehalten. Nach A. FISCHER und CARREL ist das der Fall, wie mittels Zytotoxinreaktionen festgestellt werden konnte. Es konnten Immunsere aus Kaninchenblut gegen verschiedene Gewebe gewonnen werden, die dann den entsprechenden Kulturen zugesetzt wurden und Aufhören des Zellwachstums bedingten.

Nach POLICARD und BOUCHARLAT unterscheiden sich alle die verschiedenen Tierplasmen lediglich durch folgende zwei Fakta: Unterschiedlicher Wassergehalt und unterschiedliche Widerstandsfähigkeit gegen Verflüssigung. Hühnerplasma verflüssigt bekanntlich schwerer als Säugerplasma und besonders Menschenplasma. Nach POLICARD soll Rattenplasma das von Sarkomtieren stammt, einen viel besseren Nährboden für normale und pathologische Gewebe abgeben als normales infolge seiner antiproteolytischen Eigenschaften und seines größeren Wassergehaltes.

γ) Die wachstumsfördernden Substanzen.

Der Embryonalextrakt hat zwei hauptsächliche Funktionen zu erfüllen: er bringt das Plasma des Mediums zur Gerinnung infolge seines Gehaltes an Thrombokinasen, und er wirkt weiterhin wachstumserregend infolge seines Gehaltes an Trepheonen. Dasselbe gilt für Milzextrakt, Roussarkomextrakt und Leukozyten. Hier interessiert zunächst nur die letztere Funktion.

Im Embryonalextrakt haben wir ein Mittel in der Hand, das uns gestattet, Mitosen in beliebigem Ausmaße zu induzieren, und zwar in den verschiedensten Körpergeweben der verschiedensten Tierpezies und des verschiedensten Alters. Auch hier gilt dasselbe Gesetz, das soeben für das Plasma erläutert wurde, daß die Wirkung des Embryonal-

extraktes nicht auf eine bestimmte Tierspezies beschränkt ist. Ähnlich wirken Extrakte von Roussarkom, Erwachsenenmilz, ferner die Leukozyten, welche nach CARRELS ausgedehnten Untersuchungen die Trepone produzieren — wachstumstimulierende Substanzen — und sie den verschiedensten Körpergeweben zuführen. Andere Organ- und Gewebeextrakte haben ebenfalls stimulierende Wirkungen auf das Wachstum in vitro entfaltet, wie die Untersuchungen von CARREL (Thyreoidea, Muskel) bewiesen. An der Spitze steht der Embryonalextrakt, dessen stimulierende Wirkung nahezu erreicht wird vom Roussarkomextrakt und Milzextrakt. Diese drei Substanzen sind die gewöhnlich verwandten.

Es hat sich gezeigt, daß die Wirkung des Embryonalextraktes in gewisser Hinsicht recht problematisch ist. Nehmen wir die Milzentwicklung in vitro als Beispiel an. Wir wissen heute, daß der Embryonalextrakt, in stärkerer Dosis angewandt, die leukozytären Elemente in der Milzkultur mit Sicherheit zum Verschwinden bringt. Sie sterben bald ab und verklumpen. Durch größere Gaben von solchem Extrakt kann man eine Milzkultur von leukozytären Elementen rasch reinigen. Die Milzstromazellen dagegen wuchern unter den gleichen Bedingungen. Es entstehen schließlich die festen Gewebeverbände. In reinem Serum, verdünnt mit Tyrodelösung, jedoch erhalten sich die Leukozytenelemente. Die Kulturen wachsen nicht, aber die normale Milzstruktur läßt sich im Inneren der Fragmente über lange Zeit aufrecht erhalten. Das ist die typische Wirkung einer protektiven Lösung. Der Embryonalextrakt jedoch entfaltet in dem gegebenen Beispiel einmal mitoseninduzierende Wirkungen und zugleich toxische Wirkungen auf Elemente verschiedener Art.

Die genauere Analyse jener mitoseninduzierenden Stoffe im Embryonalextrakt ist ein besonders wichtiges Problem von allgemeinem Interesse. Nach A. FISCHER ist der Embryonalextrakt ein heterogenes Gemisch einer Anzahl unübersehbarer Stoffe, von welchen einige Wachstum fördern, andere Wachstum hemmen und wieder andere die Gerinnung des Plasmas zustande bringen. Wachstumshemmend sind die Lipide und die Aminosäuren. Bei Erhitzen auf 56° C wird die wachstumsfördernde Kraft herabgesetzt, bei Erhitzen auf 70° C zerstört. Daß diese fraglichen Substanzen und Komponenten des Embryonalextraktes sehr labiler Natur sein müssen, zeigt weiter die Erfahrung, daß einfache mechanische Eingriffe, wie starkes Schütteln, Filtrieren durch ein Berkefeldfilter, Zerreiben der Embryonen mittels Kieselgurzusatz im Mörser eine deutlich erkennbare Herabsetzung der Aktivität zur Folge hat. CARRELS Versuche zielten hauptsächlich daraufhin ab, die aktiven Substanzen zu isolieren. Durch Eindampfen, Präzipitation, Verdauung, chemische und fermentative Einwirkungen verschiedenster Art wurden Produkte gewonnen, deren Wirkung genauestens in vitro erprobt wurde. Es kann hier nicht auf die sehr ausgedehnten Arbeiten von CARREL und BAKER im

einzelnen eingegangen werden. Es ergaben sich als hauptsächliche Resultate, daß die Albuminfraktion (durch Dialyse und Sättigung des Filtrates mittels Ammoniumsulfat gewonnen) keinen stimulierenden Effekt hatte. Die wachstumsfördernden Substanzen liegen also in der Globulinfraktion. Es ergab sich weiter, daß die Aminosäuren toxisch (E. MAYER und A. FISCHER) oder nur in geringem Maße stimulierend wirken, und daß die wachstumsfördernden Substanzen Eiweißspaltprodukte sind, die dem ursprünglichen Eiweißmolekül noch sehr nahe zu stehen scheinen. — Dem Nichteiweißstickstoff kommt nur eine ganz geringe oder überhaupt keine stimulierende Wirkung zu. Verdauungsversuche mittels Pepsin und Trypsin ergaben, daß das Verhältnis von Total-N zu Amino-N maßgebend ist für die stimulierende Kraft der Substanz. Ist der Quotient Total-N zu Amino-N etwa 5,2—6,3—9,0, d. h. steigt der Quotient über 5,2 hinaus, so steigt damit der wachstumsfördernde Effekt. Solche Substanzen lassen sich, und das ist das Wesentliche, nicht nur aus Embryonalextrakt herstellen, sondern auch aus käuflichem Fibrin, aus Organen (Kaninchengehirn u. a.). Eiereiweiß, derartig vorbehandelt, ergab ebenfalls gute Resultate. CARREL nennt solche Substanzen, die dem ursprünglichen großen Eiweißmolekül noch am nächsten stehen, „Proteosen“. Es sei ein Gemisch von Eiweißgrundkörpern unbekannter Art, die sich durch gewisse spezifische, biologische Effekte auszeichnen. Solche aus Wittepepton hergestellten Proteosenpräparate haben stimulierende Effekte gezeigt, die die des Embryonalextraktes noch überstiegen (CARREL, BAKER, A. FISCHER). Diese spezifisch mitoseninduzierenden Stoffe sind nach A. FISCHER an Kolloide gebunden, die leicht veränderlich sind. Sie stellen ein „polydisperses System“ dar, und ihre Aktivität sei verbunden mit besonderen Zuständen und Vorgängen, wie Oberflächenaktivität, Viskosität, elektrische Ladung, osmotischer Druck, Anlagerung und Aktivierung oder Hemmung von Fermenten (A. FISCHER).

Die Untersuchungen haben ferner ergeben, daß den Fettsubstanzen im Extrakt und Plasma keinerlei stimulierender Effekt zukommt. Alle ätherlöslichen Substanzen erwiesen sich vielmehr als toxisch (A. FISCHER). Daraus ergibt sich die sehr wichtige Erkenntnis, daß sich Gewebeextrakt und Plasma nicht standardisieren lassen, daß sich infolgedessen immer gewisse Differenzen in der Wachstumsgröße ergeben werden, solange natürliche Medien verwandt werden, in denen sich nicht mit pharmakologischer Exaktheit alle beteiligten Substanzen, die das Wachstum irgendwie positiv oder negativ zu beeinflussen vermögen, dosieren lassen.

δ) Die künstlichen Nährböden.

Hier handelt es sich hauptsächlich um die Versuche von CARREL und BAKER, Medien von bestimmter Zusammensetzung zu prüfen auf ihre Wirkung in der Kultur und auf diesem Wege die notwendigen Substanzen kennen zu lernen. Es seien hier zwei von BAKER angegebene Medien

angeführt, die ich selbst zu erproben Gelegenheit hatte. Das eine enthält folgende Substanzen:

	per 100 cc
„WITTE's Pepton	675,00 mg
Cysteine hydrochloride	9,00 mg
Hemin	0,0036 mg
Insulin	0,09 units
Thyroxin	0,0009 mg
Glucose	100,00 mg
Serum homologous	10,00 cc
Vitamin A	900,00 to 1800,00 units
Vitamin D	about 15,00 to 30,00 units
Vitamin C (crystalline ascorbic acid)	0,25 mg
Glutathione	1,00 mg
Phenol red	5,00 mg
Sodium chloride	720,00 mg
Potassium chloride	18,00 mg
Calcium chloride, anhydrous	18,00 mg
Magnesium chloride, 6 H ₂ O	9,00 mg
Sodium bihydrogen phosphate	4,50 mg
Sodium bicarbonate, anhydrous	100,00 mg" (BAKER 1936).

Mit einer solchen Nährlösung, mit Tyrodelösung zu gleichen Teilen verdünnt, wurden Nervenkulturen mehrere Stunden lang gewaschen, und es konnte ein deutlicher Differenzierungseffekt in alten Kulturen, die aus Neuroepithelmembranen bestanden, erzielt und beobachtet werden (K. BAUER). BAKER beschreibt dieses Medium als geeignet, um stimulierende Effekte auf Fibroblasten und Epithelien auszuüben. Sie gibt an, daß dies neue künstliche Medium Fibroblasten genau so zur Proliferation anregt wie der Embryonalextrakt. In einem Experimente nahmen zwei kleine Herzfibroblastenfragmente in der 6. Passage in vitro an Größe derart zu, daß sie das Koagulum in einer D 3,5-Flasche innerhalb von 11 Tagen vollständig bedeckten (BAKER). Ferner wurde Muskelzellproliferation beobachtet. Frische Herzmuskelfragmente produzierten eine beträchtliche Masse pulsierenden Gewebes, wenn sie in dieses Medium explantiert wurden. Irisepithel vom Hühnerembryo wuchs 65 Tage lang.

BAKER gibt ein weiteres künstliches Medium an für Monozyten-explantate, das folgende Zusammensetzung (S. 464) hat.

Dieses Medium bei Züchtung in ausschließlich flüssiger Phase ist geeignet für Monozytenkulturen. Nach BAKERs Angaben bedeckten die Monozyten bereits nach 4 Tagen die gesamte Flaschenbodenfläche und konnten über 80 Tage lang gehalten werden. Die Hälfte der Kultur wurde daraufhin herausgeschnitten und entfernt. In weiteren 3 Tagen war der Flaschenboden wieder mit Monozyten bedeckt. Ein Teil der Kultur wurde daraufhin jeden 4. oder 5. Tag entfernt, um das Wachstum in Schranken zu halten. Kontrollkulturen, die in 25 % Serum ohne irgendeine

der oben enthaltenen Substanzen gezüchtet wurden, wuchsen dagegen sehr langsam. Die Quantität des zugefügten Serums kann variiert

	per 100 ccm
„Serum	25,00 ccm
WITTE's Pepton	85,00 mg
Vitamin A	50,00 to 100,00 units
Vitamin D	1,00 to 20,00 units
Vitamin B	0,0053 units
Vitamin B	0,0001 units
Vitamin C (crystalline ascorbic acid)	0,085 mg
Glutathione	0,34 mg
Cysteine hydrochloride	1,125 mg
Hemin	0,00045 mg
Insulin	0,012 units
Thyroxine	0,000113 mg
Phenol red	5,0 mg
Glucose	200,00 mg
Sodium chloride	581,00 mg
Potassium chloride	15,00 mg
Calcium chloride, anhydrous	15,00 mg
Magnesium chloride, 6 H ₂ O	7,50 mg
Sodium dihydrogen phosphate	3,75 mg
Sodium bicarbonate, anhydrous	75,00 mg'' (BAKER 1936).

und somit das Wachstum der Monozyten beliebig gesteuert werden, je nach dem Bedürfnis des Experimentes. Das Serum kann nicht gänzlich eliminiert werden, aber die Konstituenten des obigen komplexen Mediums können das Serum bis zu einem gewissen Grade ersetzen. Nach BAKERs Angaben ist die Proliferation noch sehr gut, wenn Serum auf 10% reduziert wird. In reinem Serum (10%) mit Tyrodelösung zusammen sterben die Kulturen nach 12 Tagen (Residualwachstum in protektiver Lösung).

Weitere künstliche Nährböden zur Aufrechterhaltung des Lebens *in vitro* sind besonders für Fibroblastenkulturen neuerdings von BAKER und A. EBELING (1938) angegeben worden. Sie unterscheiden sich von den soeben genauer beschriebenen durch das Fehlen oder die starke Reduktion des Wittepeptons (6 mg-%) und des Serums. Zum Teil haben die Autoren verdautes Rinderblut (30—60 mg-% N) verwandt, aus welchem alle unverdauten Proteine und wachstumsfördernden Proteosen entfernt worden sind. Diese neuen, von BAKER ausgearbeiteten Medien ermöglichen es, Fibroblastenstämme ohne Wachstum bis zu 60 Tagen am Leben zu erhalten. Längere Züchtung schadet der Kultur offenbar. Es gelang EBELING, nach 60 Tagen solche ruhende Kulturen wieder zum Wachsen zu bringen durch Zusatz von Trephonen. —

Nach P. ROUS reagieren Zellen in Mitose sauer. Mittels Lackmuskzusatz stellte ROUS fest, daß sowohl Hühnersarkomgewebe als auch normales Hühnerembryonalgewebe im Verlaufe des Wachstums das blau-

gefärbte Nährbodenplasma blaß rot färben. Im allgemeinen bedient man sich zur Feststellung der Wasserstoffionenkonzentration der kolorimetrischen Methode (Phenolrot). p_H liegt optimal zwischen 7,0 und 7,5. Im Falle des Sinkens unter p_H 7,0 sind Eingriffe notwendig. Damit soll nicht gesagt sein, daß unter p_H 7,0 kein Wachstum möglich wäre. Bei einer Wasserstoffionenkonzentration von p_H 6,8 züchteten W. H. LEWIS und FELTON (1924) in Locke bouillondextrose (s. oben) verschiedene Gewebe mit Erfolg. Wachstumsstillstand oder beginnender Regreß tritt ein, wenn p_H tiefer sinkt als 6,5. In Kulturen mit abnorm hoher Alkalinität oder Azidität wird das Wachstum immer geringer und hört schließlich ganz auf.

E. Die Organexplantation¹.

a) Fragestellungen.

Mit der Einführung einer Methode, die es ermöglicht, ganze Organe oder Organgruppen am Leben zu erhalten, haben sich neue Möglichkeiten der Untersuchung lebendiger Substanz ergeben. Es bedarf keiner weiteren Erörterung, daß, wenn es einmal gelänge, ganze Organe oder Organgruppen zu isolieren und außerhalb des Körpers in einem neuen und künstlichen Lebensraum über Jahre zu erhalten in genau derselben Weise, wie wir das mit der Gewebekultur heute leicht zustande bringen, eine Reihe wichtigster Fragen der Organphysiologie von neuen Gesichtspunkten aus untersucht werden könnte.

Die Fragestellung, aus der heraus sich diese neue Methode entwickelt hat, ist aber zunächst eine andere als diejenige, welche die Physiologen dazu geführt hat, an überlebenden Organen kurz nach der künstlichen Isolierung ihre speziellen Aufgaben gewidmeten Versuche zu unternehmen. Es sei hier unter anderem nur auf die bekannten Untersuchungen STARLINGS und seiner Schule hingewiesen. Abgesehen von der möglichen Applikation der Methode für die speziellen Fragen der Physiologie ist die oberste und grundsätzliche Aufgabe, welche sich die Explantation ganzer Organe in vitro zunächst gestellt hat, eine *erhaltungsmechanische* (s. später): Welche biologischen Bedingungen des Nährbodens oder des neuen künstlichen Lebensraumes ganz allgemein müssen gegeben sein, damit ein morphologisch hochdifferenziertes Organ mit allen seinen strukturellen Besonderheiten — der notwendigen Voraussetzung für die spezifische Funktion — beliebig lange erhalten werden kann? — Es ist wieder das ähnliche Problem, das wir einleitend erörtert haben und welches das Verhältnis Protoplasma:Umgebung betrifft, das hier experimentell angegangen werden soll.

Dabei wird ausgegangen von der Voraussetzung, daß ebenso wie in der Gewebekultur die immanenten Potenzen der Zellen zum Wachstum,

¹ Der von A. THOMAS (Paris) auf der Tagung des Internationalen Zellforscherkongresses in Zürich, 1938, demonstrierte Apparat beruht auf ähnlichen Prinzipien wie der hier beschriebene und soll die Bearbeitung der gleichen Probleme ermöglichen.

insbesondere die Mitosefähigkeit jederzeit willkürlich und in beliebigem Ausmaße und beliebig lange zur Entfaltung gebracht werden können, es auch möglich sein müsse und gelingen müsse, die immanenten Potenzen der lebendigen Substanz zu spezifischer Differenzierung *in vitro* zur Verwirklichung zu bringen und bereits differenzierte Strukturen beliebig lange zu erhalten. Es ist in Abschnitt B darauf hingewiesen worden, daß die vollständige Realisierung der spezifischen histogenetischen Potenzen der Gewebe *in vitro* ein Postulat der Explantationsforschung ist, das es noch zu verwirklichen gilt. Die bisherigen Versuche, die unter dieser speziellen Fragestellung ausgeführt wurden, sind wenige und zeigen, daß die Neigung zu spezifischer histogenetischer Differenzierung *in vitro* nicht erloschen ist. Die Nervenkulturen, die Milzkulturen in Serum gezüchtet, gewisse Knochenexplantate haben eindeutige Ergebnisse erbracht. Mit der Klärung dieser entwicklungsmechanischen Frage in der Gewebezüchtung und der entsprechenden erhaltungsmechanischen Frage in der Organkultur würde die Möglichkeit einer kausalen Analyse der histogenetischen Differenzierung näher gerückt sein. Die ganze Explantationsforschung hat sich auf diese neue Problemstellung auszurichten, nachdem von CARREL gezeigt werden konnte, daß die mitotische Wachstumsfähigkeit der lebendigen Substanz jederzeit in beliebigem Ausmaße und beliebig lange erhalten werden kann. Im Embryonalextrakt hauptsächlich haben wir das ideale Mittel in der Hand, um Mitosen zu induzieren. Die genauere Analyse derjenigen Substanzen oder Mittel, die histogenetische Differenzierung in beliebigem Maße und zu beliebiger Zeit ermöglichen und die lange Erhaltung bereits differenzierter Organe gestatten, steht noch aus. Die Organkultur hat im Rahmen dieser allgemeinen Problemstellung eine wichtige Aufgabe zu erfüllen. Eine Lösung der erhaltungsmechanischen Aufgabe im eben gekennzeichneten Sinne würde eine sehr genaue Kenntnis der notwendigen Bedingungen des neuen Lebensraumes für das bereits hochdifferenzierte und funktionsfähige Organ voraussetzen.

b) Technik der Organexplantation.

Eine der wichtigsten technischen Fragen der ganzen Explantationsforschung ist die, wie der durch den Stoffverbrauch bedingte Stofftransport zwischen den einzelnen Teilen des Explantates in dem neuen, künstlichen Lebensraum vor sich geht. Bei der üblichen geringen Größe der Gewebefragmente (1 mm Kantenlänge) gelangen genügend Nährstoffe in die oberflächlichen Mutterstückpartien durch die Wundflächen hindurch, um den Stoffverbrauch zu regulieren. Diejenige physiologische Kraft, die dabei in Erscheinung tritt, ist die Diffusion von Stoffen aus dem Medium in das lebendige Gewebe hinein und umgekehrt aus dem Gewebe heraus in das Medium. Das führt mit der Zeit zu einem Schwund der im Medium vorhandenen Nährstoffreserven und zu einer Anhäufung von giftigen Stoffwechselprodukten und von Kohlensäure. Durch regel-

mäßiges Umsetzen, Waschen und andere Manipulationen kann man diesen Umständen begegnen. Daß die Diffusion auch für größere Gewebekomplexe in vitro ausreichend sein kann, zeigen die Untersuchungen von MARTINOVITCH (1938), dem es gelang, ganze Ovarien von Ratten und Mäusen im Alter von 16 Tagen des intrauterinen Lebens bis zum 4. Tage nach der Geburt längere Zeit (bis zu 4 Wochen!) am Leben zu erhalten (s. auch NICHOLAS, GOSS). Es handelt sich dabei also um Gewebestücke, die das Vielfache einer gewöhnlichen Gewebekultur im Sinne CARRELS an Masse betragen. Die Explantate MARTINOVITCHs befanden sich in dem üblichen Plasmaembryonalextraktmedium (s. oben).

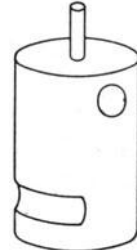


Abb. 37.

Selbstverständlich wird aber diese hier wirksame Form des Stofftransportes und -austausches ungenügend, sobald größere, erwachsene Organe zur Explantation verwendet werden. Nach BETHE sollen durch das Mittel der Bewegung der Interzellularflüssigkeiten folgende Aufgaben erfüllt werden: Transport der Nahrungsstoffe von den resorbierenden Oberflächen zu den Verbrauchsstellen (bzw. von den Depots zu den Verbrauchsstellen); Transport der Stoffwechselprodukte von den Bildungsstellen zu den exkretorischen Organen oder zu Stellen weiterer Verarbeitung; Transport der Atemgase zu den respiratorischen Oberflächen; Transport von Zellen, welche nur zeitweise sich in den strömenden Leibeflüssigkeiten erhalten, durch Eigenbeweglichkeit aber auch imstande sind, sich außerhalb ihrer Bahnen (Blut, Lymphe) fortzubewegen; Transport von Hormonen; Transport von Wärme (selbstgebildet bei Homiothermen und im wesentlichen von außen aufgenommen bei Poikilothermen). Von MCMMASTER und PARSONS sind interessante Beobachtungen gemacht worden über den Transport hochmolekularer Stoffe in den interstitiellen Räumen. Danach spielen die kollagenen Bindegewebsfasern eine wichtige Rolle beim Flüssigkeitstransport (Leitorgan). Kompliziertere Aufgaben des Stofftransportes und ganzes Organen nur erfüllt werden durch Benutzung der natürlichen Blutbahnen des betreffenden Organes oder Organsystems. Die Organexplantation versucht, von der zuführenden Arterie aus die Ernährung und alle jene soeben genauer bezeichneten Aufgaben zu erfüllen und zu regeln.

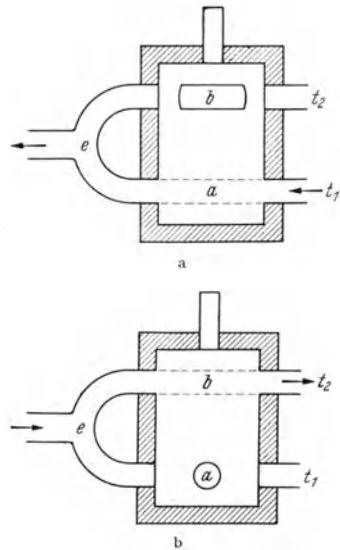


Abb. 38 a und b.

Die Aufrechterhaltung der Lebensprozesse in einem Organ *in vitro* ist abhängig von der besonderen Zusammensetzung der Durchströmungsflüssigkeit, den lokalen und allgemeinen Kreislaufverhältnissen, dem Einfluß der Nerven und der inneren Sekretion. Bis auf den Einfluß

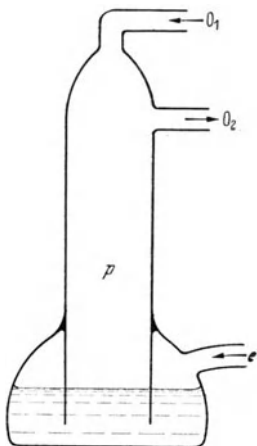


Abb. 39.

der Nerven, der bis zu einem gewissen Grade ausgeschaltet ist, liegt die Gestaltung der genannten Faktoren in der Hand des Experimentators. Inwieweit die Nerven einen trophischen Einfluß auszuüben vermögen, ist eine vielfach diskutierte Frage, auf die wir hier nicht näher eingehen wollen. Wirksam können in einer Organkultur natürlich nur jene nervösen Strukturen werden, die in dem Organ oder den Gefäßwänden selbst gelegen sind, soweit sie kernhaltig sind.

CARREL (1938) weist darauf hin, daß die Idee, an überlebenden Organen anatomische und physiologische Besonderheiten zu studieren, alt sei und letzten Endes auf LE GALLOIS zurückgehe (1812), der bereits den Gedanken klar formuliert habe, daß eine künstliche Perfusion isolierter Organe auf dem Wege der Gefäße zum Zwecke der Aufrechterhaltung aller Lebensprozesse mög-

lich sein müsse. LE GALLOIS hat (zitiert nach CARREL) auch bereits den Gedanken einer dadurch möglichen Unsterblichkeit des Explantates ausgesprochen. — Weitere Versuche sind unternommen worden in der

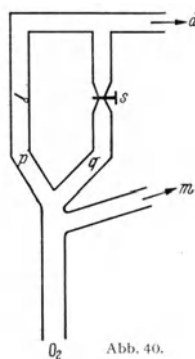


Abb. 40.

Folgezeit von vielen Physiologen (LUDWIG u. a.). Alle jene Experimente jedoch waren nur kurzdauernde Versuche, die von einer anderen Fragestellung ausgingen als die oben gekennzeichnete. *Nach CARREL ist der Haupteffekt der künstlichen Perfusion, die Organe lange Zeit am Leben zu erhalten.* Die physiologischen Versuche beschränkten sich jedoch auf die Beobachtung gewisser funktioneller Eigenschaften während der ersten Stunden nach Herausnahme aus dem ganzen Organismus. Es waren Versuche an kurz überlebenden oder besser „sterbenden“ Organen.

Bereits 1913 hatte CARREL an ganzen Organismen experimentiert. Herz, Lunge, Magen-Darmkanal, Nieren, Blase wurden in natürlichem Zusammenhange explantiert. Das Herz wurde durch Infusion einer physiologischen Kochsalzlösung schlagend erhalten, so daß es durch seine Eigentätigkeit den Lungenkreislauf und den Kreislauf durch alle explantierten Organe, wie Magen, Darm, Niere und Blase, aufrechterhalten konnte. Die Lungen wurden künstlich mit Luft gefüllt, die präparierte Nahrung durch eine Sonde in den Oesophagus eingeführt. So entstand

ein einige Stunden lang lebender „visceraler Organismus“, der Harn produzierte. Es verliefen die peristaltischen Bewegungen ungestört weiter, die Verdauung im Magen-Darmkanal ging vonstatten. Dieser Organismus lebte 10 Stunden lang (CARREL).

Mit der Konstruktion einer Apparatur (LINDBERGH-CARREL), die es gestattet, die Explantate steril zu halten und eine *sterile*, pulsierende Flüssigkeitsbewegung zu erzielen, ist die Aufklärung und Verwirklichung der genannten technischen Fragen in den Bereich des Möglichen gerückt worden.

Die gesamte Vorrichtung besteht aus zwei Teilen: einer etwa 45 cm hohen Glasflasche, welche drei übereinander angeordnete Kammern enthält, und einer Apparatur, an welche die betreffende Flasche angeschlossen ist. Diese letztere erzeugt einen wechselnden, pulsierenden Gasdruck, der auf die Durchströmungsflüssigkeit im Reservoir der hohen Glasflasche übertragen wird. Das in der „roller tube method“ von W. H. LEWIS und der Gewebekulturflasche von LINDBERGH (s. Abb. 2 und 3) angewandte Prinzip der permanenten Spülung oder Durchströmung des Kulturraumes ist hier in anderer und technisch vollendeter Weise verwirklicht worden.

Ein Gasgemisch von der Zusammensetzung der atmosphärischen Luft steht in einem Gastank unter einem gewissen Druck zur Verfügung (Abb. 42, 1) und wird zunächst durch einen dickwandigen Gummischlauch zu einem rotierenden Stahlzylinder hingeleitet, der von zwei Kanälen durchbohrt ist (Abb. 37). Dieser Zylinder bewegt sich in einem Stahlgehäuse, welches 4 Öffnungen enthält, die derart angebracht sind, daß die beiden Kanäle des rotierenden Stahlzylinders bei jeder Rotation je zweimal mit den korrespondierenden Öffnungen des Gehäuses für einen Augenblick kommunizieren. Die Rotation des Stahlzylinders wird durch einen Elektromotor reguliert. Die Zahl der Umdrehungen pro Minute beträgt etwa 40 und ergibt die jeweilige, willkürlich zu regulierende Pulszahl. Eine vollständige Rotation verursacht zwei Pulsationen, also pro Minute ergeben sich 80 Pulsschläge (s. Abb. 38a und b).

Die beiden den Stahlzylinder durchbohrenden Kanäle *a* und *b* stehen senkrecht zueinander in bestimmtem Abstände. Beide haben verschiedene Kaliber, der eine ein rundes, der andere ein ovales Lumen im Querschnitt. Das unter Druck stehende Gas vom Tank 1 (Abb. 42) wird nun durch einen Gummischlauch in die Leitung *e* getrieben (Abb. 38a), wenn Stellung des Kanales *a* im Stahlzylinder derart ist, daß seine beiden ~~die~~ Öffnungen sich mit denen des Gehäuses decken (Abb. 38a), d. h. wenn t_1 für einen Augenblick mit *a* und damit gleichzeitig mit *e* kommuniziert.

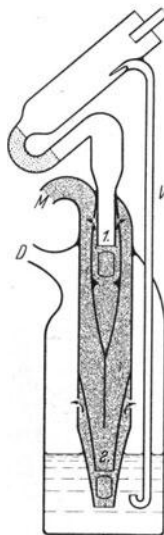


Abb. 41.

Bei dieser Stellung des Zylinders strömt für einen Moment Gas unter Druck in die hufeisenförmig gekrümmte Glasröhre e . Der andere Kanal des Zylinders steht zu dieser Zeit senkrecht zur Richtung der Leitung t_1-a-e und damit senkrecht zu t_2 , so daß ein Rückstrom des unter Druck stehenden Gasgemisches in e durch die Leitung $e-b-t_2$ in diesem Augenblick unmöglich ist. Der gesamte, von dem vorgeschalteten Gastank ausgeübte Druck überträgt sich also für einen kurzen Augenblick auf ein besonderes Röhrensystem, dessen Anfang in der schematischen Zeichnung Abb. 38a durch e dargestellt ist. — Im weiteren Verlauf der Rotation des Stahlzylinders kommunizieren schließlich die beiden Leitungen t_2 und e miteinander durch den Kanal b (Abb. 38b), die Verbindung $e-b-t_2$ wird vorübergehend geöffnet, und das unter Druck stehende Gas in e

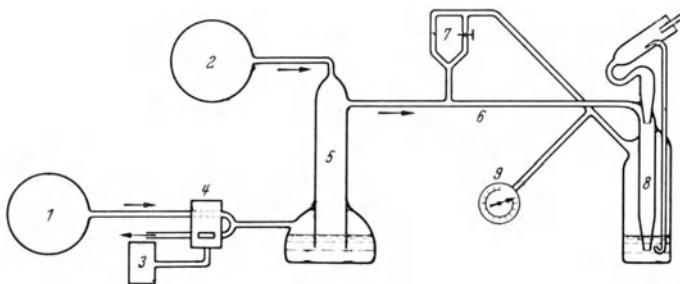


Abb. 42.

strömt durch b und t_2 wieder zurück ins Freie. Bei jeder Rotation des Stahlzylinders kommt je eine Öffnung des Kanales a und b zweimal in Kommunikation mit e bzw. mit t_1 und t_2 , so daß mit anderen Worten zwei Pulsationen mit entsprechendem Druckanstieg und Druckabfall in e bewirkt werden.

An diesen rotierenden Stahlzylinder ist nun eine besondere Glasflasche, die sogenannte Ölflasche, angeschlossen (Abb. 39). Ein oben konisch geformter Glaszylinder ist mit seinem unteren Teil an einen erweiterten Glasbehälter angeschmolzen. Er enthält oben zwei Öffnungen, welche mit einem besonderen Röhrensystem verbunden sind, und taucht mit seinem unteren Teil in Paraffinöl ein, das sich in dem basalen Raum befindet. Diese untere, erweiterte Kammer steht durch die Öffnung e mit der Leitung e der Abb. 38a und b in Verbindung. Der Raum p der Ölflasche ist durch das Öl von dem Gasgemisch, welches aus dem erwähnten Gastank schließlich in die Leitung e und in den basalen Raum einströmt, vollkommen abgeschlossen. Aus der oberen Öffnung O_1 strömt nun ein anderes Gasgemisch aus einem zweiten Tank, welches bestimmte Zusammensetzung (Sauerstoff: Stickstoff: Kohlensäure 80:17:3) aufweist, in den Raum p (Abb. 42). Dieses Gasgemisch kommt mit der zirkulierenden Flüssigkeit der Pumpe in innige Berührung und wird dabei noch in besonderer Weise sterilisiert, worauf jetzt nicht weiter eingegangen werden

kann. Die Ölflasche funktioniert nun derart, daß der wechselnde pulsierende Gasdruck aus e zunächst übertragen wird auf die basale erweiterte Kammer der Ölflasche und somit auf das dort befindliche Paraffinöl. Der Ölspiegel steigt in dem Glaszylinder p nach oben. Das Gas in p kann nur entweichen durch die Leitung O_2 , weil das aus dem zweiten Tank einströmende Gas in O_1 unter Druck steht. In der ersten Phase der Pulsation steigt also die Ölsäule nach oben und drückt das Gasgemisch in die Leitung O_2 . Mit dem Nachlassen des Druckes in der zweiten Phase in e sinkt die Ölsäule wieder nach unten und ruft dadurch eine beträchtliche Druckverminderung in p und O_2 hervor, die durch Zufluß aus dem zweiten Tank (O_1) ausgeglichen wird.

Aus der Röhre O_2 gelangt das Gasgemisch in ein besonders kompliziertes Leitungssystem (Abb. 40), das in der Abbildung vereinfacht dargestellt ist. Die Röhre O_2 teilt sich in drei besondere Leitungen, von denen eine (m) direkt in die Mittelkammer oder Druckausgleichskammer der Pumpe mündet. D. h. in jener Leitung m und damit auch in der erwähnten Mittelkammer der Pumpe (M) ist der Druck während beider Phasen der Pulsation der gleiche wie in p . Wir haben also in jenen Räumen immer einen diastolischen Druck von O , während der maximale Druck in der ersten Phase, der systolische Druck, je nach Einstellung 60 mm und mehr mm Hg beträgt. Mit anderen Worten heißt das, daß in jenen Räumen und Leitungen immer das größte Druckgefälle vorhanden ist. Anders verhält es sich in den beiden Leitungen p und q . Die Leitung p enthält ein einfaches Klappenventil, welches sich in der zweiten Phase der Pulsation automatisch schließt, so daß in diesem Augenblick kein Gas zurückströmen kann. In der Röhre q dagegen ist eine willkürlich zu regulierende Verengung (S) angebracht, welche durch eine einfache Schraubenvorrichtung gestellt werden kann. Durch diese Stenose strömt weniger Gas in die Röhre d , welche beide Leitungen p und q wieder vereinigt; in der zweiten Phase aber ist auch der Rückfluß gehemmt an dieser Stelle. Daraus ergibt sich folgendes: In der oberen Röhre d ist der Maximaldruck in der systolischen Phase der Pulsation gleich demjenigen in den Leitungen p , O_2 und M . Während der Druck aber in der zweiten Phase in M und O_2 sinkt auf 0, ist in dem Leitungssystem d der Druck in der diastolischen Phase niemals gleich 0, sondern je nach der Einstellung der Vorrichtung s ein Bruchteil, etwa die Hälfte des systolischen Druckes. Die Leitung D mündet in die basale Kammer, in das Reservoir der Pumpe ein. Der wesentliche Zweck der beschriebenen Vorrichtungen ist also, abgesehen von der gleichzeitigen Sterilisierung des Sauerstoffgemisches und Sättigung des Gasgemisches mit H_2O , auf die hier nicht eingegangen worden ist, die Erzielung eines pulsierenden Gasdruckes, der sich auf die Nährflüssigkeit im Reservoir der Pumpe überträgt. In den beiden Leitungen D und M ist eine Druckdifferenz in der zweiten, diastolischen Phase zu verzeichnen. Das ist das wichtigste Faktum.

Die Pumpe ist eine etwa 45 cm hohe Glasflasche mit besonders differenzierter Kammereinteilung. Die Organkammer, die oberste, steht mittels einer S-förmig gekrümmten dicken Glasröhre in Verbindung mit der Mittelkammer, welche einen schmäleren Zylinder inmitten des Reservoirs darstellt. Reservoir und Mittelkammer haben je eine Öffnung, an welche die beiden Leitungen d und m angeschlossen werden (Abb. 41). Die Organkammer ist mit dem Reservoir verbunden durch eine senkrecht aufsteigende schmale Röhre V und mit dem Mittelraum weiterhin durch eine kompliziertere, ventilartig abschließbare Öffnung (1). Der Mittelraum ist ferner durch ein zweites Ventil abschließbar gegen das Reservoir (2). Nach luftdichtem Abschluß der Organkammer arbeitet die gesamte Apparatur folgendermaßen: Der durch die Leitung D auf das Reservoir in der systolischen Phase übertragene Gasdruck (angenommen 100 mm Hg) überträgt sich auf die Durchströmungsflüssigkeit und treibt diese in der Röhre V nach oben in die Organkammer, wo an eine besondere Kantile die Arterie des explantierten Organes durch eine Ligatur befestigt ist. Zu gleicher Zeit wird durch die Leitung M in der Mittelkammer derselbe systolische Druck (100 mm Hg) erzeugt. Das Druckmaximum in der Organkammer ist annähernd das gleiche (in Wirklichkeit etwas geringer. Schwere der Flüssigkeitssäule in V !). Die beiden ventilartig funktionierenden Vorrichtungen bei 1 und 2 sind nun gezwungen, verschiedene und entgegengesetzte Bewegungen auszuführen. Dadurch kommt es in dieser Phase der Pulsation zu einem Abschluß der Organkammer von der Mittelkammer (Abb. 41) und zu einer Kommunikation zwischen Mittelkammer und Reservoir. Das obere Ventil schließt sich, das untere aber öffnet sich. Der Druck in der Organkammer ist etwas geringer als in der Mittelkammer in dieser Phase (die Schwere der Flüssigkeitssäule in V ist abzuziehen), deshalb erfolgt der Schluß des Ventiles 1 . In der diastolischen Phase aber besteht eine Druckdifferenz in den Leitungen D und M , d. h. auch in der Mittelkammer und in dem Reservoir. Daraus folgt, daß das untere Ventil geschlossen wird, weil der Druck im Reservoir größer ist als im Mittelraum. Das obere Ventil 1 aber öffnet sich, denn der Druck in der Organkammer ist größer als in der Mittelkammer, wo er um diese Zeit auf 0 sinkt. Das richtige Funktionieren dieser genannten Ventile ist maßgebend für das hemmungslose Abfließen der Nährflüssigkeit aus der Vene des explantierten Organes und damit aus der Organkammer. Die Nährflüssigkeit wird also nicht nur durch eine *vis a tergo* durch das Organ und die Organkammer gepreßt, sondern das durch die Ventilöffnung (1) in der zweiten Phase der Pulsation geschaffene Druckgefälle zwischen Organkammer und Mittelkammer wirkt sich aus und schafft glatten Abfluß der Nährflüssigkeit aus der Vene bzw. Organ. In Abb. 41 ist der Einfachheit halber eine Darstellung gegeben, wie sie bei einer arbeitenden Pumpe *nicht* möglich ist: Die beiden Ventile 1 und 2 sind geöffnet. In Wirklichkeit ist immer nur *ein* Ventil offen, während das andere gleichzeitig geschlossen ist.

Diese kurze Beschreibung enthält die wesentlichen Punkte des Mechanismus der Apparatur. Für genauere Informationen sei hingewiesen auf die ausführliche Beschreibung, die CH. LINDBERGH gegeben hat (1938). — Die Apparatur erfüllt folgende Aufgaben: eine pulsierende, willkürlich zu regelnde Flüssigkeitsbewegung zu schaffen, Maximum- und Minimumdruck in der zuführenden Arterie meßbar und regulierbar zu gestalten, den Lebensraum steril zu halten, den osmotischen Druck der Nährlösung konstant zu halten und die Temperatur innerhalb gewisser Grenzen regulierbar und konstant zu halten.

c) Die ersten Ergebnisse.

α) Künstliche und natürliche Medien.

Zu den natürlichen Medien rechnen wir verdünntes Blut, verdünntes oder unverdünntes Blutserum, heparinisirtes Blutplasma, verdünnt oder unverdünnt. — Schließlich ist noch das mit Hämoglobin versetzte Serum zu erwähnen. Die Verdünnung wird vorgenommen mit einer etwas modifizierten Tyrodelösung, die folgende Zusammensetzung hat:

NaCl	8,0	NaH ₂ PO ₄ · H ₂ O	0,05
KCl	0,2	NaHCO ₃	1,0
CaCl ₂	0,2	Glukose	1,0—3,0
MgCl ₂ · 6H ₂ O	0,1	aqua dest. ad	1000,0

Die Verdünnungsflüssigkeit enthält also die dreifache Menge Glukose. p_H liegt etwa bei 7,4 und wird gehalten durch Einleiten von CO₂, was besonders nach den Filtrationen (BERKEFELD!) notwendig ist. Serum (homolog) in 10-, 20-, 40-, 50- bis zu 80%iger Konzentration eignet sich vorzüglich und besitzt hochgradig protektive Fähigkeiten für Schilddrüsen, Gefäße, Ovarien, die bis zu einer Woche leicht am Leben erhalten werden können. Die bisher erzielte Maximalzeit der Züchtung beträgt nach CARREL 40 Tage (Schilddrüsen).

Die Schilddrüsen (Katzen) sind am eingehendsten studiert worden (CARREL, OKKELS). Eine 24 Stunden lange Perfusion mit verdünntem Serum bringt keine wesentlichen Veränderungen im histologischen Aufbau der Drüse zustande. Die Form, Größe und Lagerung der Epithelien sowie das Kolloid sind unverändert und dieselben wie in der Kontrolldrüse der anderen Seite, die nicht explantiert worden ist. Auch in 48 Stunden alten Explantaten sind Kolloid der Vesikel und Kernplasmastruktur erhalten. Das Epithel wird aber etwas höher, es zeigt eine geringe Schwellung. Nach CARREL ist diese Erscheinung nicht etwa aufzufassen als Vorläufer einer beginnenden Degeneration, sondern als Zeichen einer beginnenden, gesteigerten, sekretorischen Tätigkeit des Drüsenepithels. — In 7 Tage alten Explantaten der Schilddrüse zeigen oft die Follikel Neigung zur Vergrößerung. Das Kolloid läßt einen höheren Grad von Vakuolisierung erkennen. Einige degenerative Herde sind nach CARREL um diese Zeit immer zu finden. Diese regressiven Veränderungen sind aber nicht allgemeiner Natur, denn CARREL gibt ausdrücklich an,

daß aus Fragmenten 18 Tage lang explantierter ganzer Schilddrüsen von Katzen Gewebekulturen angelegt worden sind, die aktives Wachstum in Gestalt epithelialer Formationen zeigten (s. CARREL, Abb. 23 und 24; 1938). In solchen Schilddrüsen, die einige Wochen lang explantiert werden konnten in verdünntem Serum, fand CARREL normale Kernplasmastruktur, Kolloid, intakte Gefäße neben partiellen Nekrosen. Diese letzteren können durch lokale Zirkulationsstörungen hervorgerufen sein. Sie fallen bei der Beurteilung nicht ins Gewicht. Nicht nur das Schilddrüsengewebe, sondern auch die umgebenden Strukturen (Ganglion cervicale sup.) wurden in 10 Tage alten Kurven in guter Verfassung gefunden (CARREL 1938, Abb. 36). In den Gefäßwänden der Arterien und Venen finden sich immer absolut normale Verhältnisse; Intima, Media; die elastischen Strukturen sind auch in alten Kulturen (2—3 Wochen) regelmäßig gut erhalten. Dasselbe gilt natürlich auch für die kleineren Gefäße, die Kapillaren und postkapillaren Venen usw.

Sicherlich verhalten sich die einzelnen differenzierten Körpergewebe verschieden in verdünntem Serum. Nach unseren Erfahrungen sind glatte Muskelstrukturen (Uterus) am besten von allen geeignet, in 40—60% igem Serum kultiviert zu werden. Sie zeigen wie die Gefäßwände niemals regressive Veränderungen und sind immer intakt, auch bei längerer Züchtung (bis zu 10 Tagen nach meinen Erfahrungen).

Modifizierte Serumlösungen sind von CARREL und K. LANDSTEINER verwandt worden. Es ergab sich die interessante Tatsache, daß auf 54° C erhitzte Seren von der Katze gewisse Veränderungen in der Schilddrüsenstruktur zu erzeugen vermochten. Die Follikel waren größer und enthielten mehr Kolloid als die Kontrollorganstrukturen. Die Epithelien waren etwas vergrößert. Die hauptsächlichste Tatsache aber war der Befund, daß erhitztes Serum die protektive Fähigkeit nicht wesentlich eingebüßt hatte.

Nieren degenerieren, wenn sie in verdünntem Blutserum kultiviert werden. Versuche mit verdünntem Blut haben keine befriedigenden Ergebnisse erbracht. Nach 24 Stunden zeigen die Organe (von Katzen) gewöhnlich Degeneration der Tubuli contorti, aber wohlerhaltene Glomeruli. p_H sinkt im allgemeinen rapid innerhalb dieser kurzen Zeit auf 6,8 oder noch niedriger. Auffällig aber ist, daß das Nierenbeckenepithel und das Ureterenepithel immer in tadelloser morphologischer Verfassung bleibt und keinerlei degenerative Veränderungen aufweist. Das gilt sowohl für die Versuche, in welchen verdünntes Serum benutzt wurde, wie für diejenigen, die mit Blut oder heparinisiertem Plasma ausgeführt worden sind.

Bei Versuchen mit Tyrodelösung als ausschließlicher Perfusionsflüssigkeit tritt bereits nach wenigen Stunden Aufenthaltes im Brutschrank (37° C) Degeneration aller Teile ein. Bei niedriger Temperatur (Zimmertemperatur) setzt die Degeneration später ein.

Zu den sogenannten *künstlichen Nährböden* rechnen wir solche, die entweder überhaupt kein Serum oder nur Spuren davon enthalten. In

gewisser Weise kann man auch das verdaute Rinderserum, das von K. LANDSTEINER¹ für die hier beschriebenen Experimente hergestellt wurde, dazu rechnen. Das Rinderserum wurde erhitzt bis zur Koagulation der Eiweißstoffe und dann einem Verdauungsprozeß unterworfen bei 37° C mittels Trypsin (nach KARL LANDSTEINER). Der Prozeß dauerte 7 Stunden lang, innerhalb welcher Zeit das koagulierte Eiweiß gelöst war. Es hat sich gezeigt, daß dieses verdaute Rinderserum, nach dem Verfahren LANDSTEINERS hergestellt, hochgradige protektive Fähigkeiten besitzt für die verschiedensten explantierten Organe.

Die zusammengesetzten Medien nach CARREL und BAKER sind folgende fünf hauptsächlich: Künstliches Medium A.

“WITTE’s Peptone	675,00 mg
Cysteine hydrochloride	9,00 mg
Hemin	0,0036 mg
Insulin	0,09 units
Thyroxine	0,0009 mg
Glucose	100,00 mg
Vitamin A (containing some Vitamin D)	900,00 to 1800,00 units
Crystalline ascorbic acid	0,25 mg
Glutathione	1,00 mg
Phenol red	5,00 mg
Sodium chloride	720,00 mg
Potassium chloride	18,00 mg
Calcium chloride, anhydrous	18,00 mg
Magnesium chloride (MgCl ₂ · 6 H ₂ O)	9,00 mg
Sodium dihydrogen phosphate	4,5 mg
Sodium bicarbonate	100,00 mg
	per 100 ccm triple distilled water”
	(BAKER).

Serum (homolog) kann bis zu einem Betrag von 10 % zugefügt werden.

Ein weiteres künstliches Medium enthält Eiweißverdauungsprodukte (gewonnen aus Blut, Serum oder Organen). Blut wird mittels Pankreatin verdaut (genauere Angaben über den Modus siehe bei L. BAKER). Das Verdauungsprodukt wird dann als Stammlösung aufbewahrt und verwandt. Zu 400 ccm verdauten Blutes, welches im ganzen 600 mg Totalstickstoff enthält, werden folgende Substanzen hinzugefügt:

“Tryptophane	436,00 mg
Solution of the sodium salt of phenol red, 1 per cent	20,00 cc
SQUIBB’s Insulin (10 units per ccm)	0,4 cc
Thyroxine-hemin solution (containing 1 mg thyroxine and 4 mg hemin per 100,00 ccm)	3,6 cc
Double Tyrode’s solution	22,2 cc
Potassium iodide solution, 2,8 per cent (diluted with water 1 to 100)	18,6 mg
Cysteine hydrochloride solid	360,00 mg
Isotonic sodium bicarbonate solution 1,4 per cent	6,8 cc” (BAKER).

¹ Beschrieben bei A. CARREL und CH. LINDBERGH: The culture of organs. New York 1938.

Diese Lösung wird mit Tyrodelösung, die den dreifachen Glukosegehalt besitzt, verdünnt, und zwar mit einem Liter. Zu 62,5 ccm der derartig präparierten Stammlösung gibt man dann noch folgende Substanzen:

“Stock solution of ascorbic acid-glutathione (10 mg ascorbic acid + 40 mg glutathione in 20 ccm RINGER’s solution)	1,25 cc
Vitamin A-Serum, containing 1000 units per cent or an equivalent amount of another vitamin A-serum, i. e., 250 units vitamin A	0,25 cc
Vitamin B ₂ solution, 1 mg per cent	0,84 cc
Tyrode’s solution containing 300 mg per cent glucose to make	250,00 cc”(BAKER).

Eine weitere Variation stellt das Medium D dar, welches nach CARREL und BAKER folgende Zusammensetzung hat: Die für die soeben beschriebene Nährlösung verwendete Stammlösung verdauten Blutes, die mit etwas abgeändertem chemischen Verfahren gewonnen wurde (BAKER), wird auch hier wieder benützt, und zwar derart, daß einer Menge, die etwa 30—60 mg Stickstoff pro Hundert enthält, folgende Substanzen zugeführt werden:

“Phenol red solution, 1 per cent	1,25
Tryptophane	13,60 mg
SQUIBB’s insulin, 10 units per ccm, diluted 1 to 10 with RINGER’s solution	0,225 cc
VOGELAAR’s thyroxine-hemin solution, diluted 1 to 500 with water	2,25 cc
Potassium iodide solution, 2,8 per cent, diluted 1 to 100 with water	1,16 cc
Cysteine hydrochloride, solid	22,50 mg
Isotonic sodium bicarbonate solution	0,425 cc
Cat serum heated for one hour at 60° C, or else unheated guinea-pig serum	12,50 cc
Tyrode’s solution containing 300 mg per cent glucose to make a total volume of	250,00 cc”(BAKER).

Dieses Medium ist nach CARREL etwas stabiler als die anderen, kann filtriert werden und einige Zeit im Eisschrank aufbewahrt werden, ohne seine protektive Fähigkeit einzubüßen.

Schließlich wäre noch zu erwähnen das Medium E, welches folgendermaßen zusammengesetzt ist: Zu 62,5 ccm der auf S. 475 beschriebenen Stammlösung aus verdautem Blut, die außerdem Tryptophan, Kaliumjodid, Cystein, Hämin, Insulin und Thyroxin enthält, werden hinzugefügt:

“Casein, 5 per cent in water	4,00 cc
WITTE’s peptone, 7,5 per cent in water	1,80 cc
Double Tyrode’s solution	5,8 cc
Vitamin A serum to contain 250 units, about	0,25 cc
Stock solution of ascorbic acid-glutathione mixture in RINGER’s solution	1,50 cc
Vitamin B ₂ 1 mg per cent	0,84 cc

Antuitrin; Parke, Davis & Co. ampule No. 218	0,50 cc
Adrenalin; Parke, Davis & Co., 1—1000 ampule	0,25 cc
Hormone of the suprarenal cortex, Eschatin, Parke, Davis & Co.	0,25 cc
Pressor principle of the pituitary, Pitressin, Parke, Davis & Co.	0,25 cc
Glycerine, Kahlbaum C. P.	1,00 cc
Thymus nucleic acid prepared by P. A. LEVENE	50,00 mg
Urea	6,00 mg
Isotonic sodium glycerophosphate, 3,58 per cent	4,0 cc
Tyrode's solution containing 300 mg per cent glu- cose to make a total volume of	250,00 cc''(BAKER) ¹ .

Dieses komplexe Medium enthält als neue Substanzen die Bestandteile des Hypophysenvorderlappens, der Nebenniere, weiterhin Kasein, Glyzerophosphate u. a. Weitere Nährlösungen, die synthetisch hergestellt wurden, sind beschrieben (K. BAUER 1938) und angewandt worden. Sie unterscheiden sich in geringem Grade von den zuletzt von CARREL selbst angegebenen Mitteln. Die Erforschung der optimalen Zusammensetzung der Medien für hochdifferenzierte Organe führt in das Gebiet der Chemie. Ohne intensive Mitarbeit eines Chemikers sind selbstverständlich die Versuche in der angegebenen Richtung nicht fortzuführen. Chemie und Morphologie berühren sich hier eng.

Einige physiologische und histologische Befunde.

Die notwendigen Faktoren, die für die Zusammensetzung künstlicher Medien gegeben sein müssen, sind noch nicht vollständig bekannt. Die explantierten Organe verhalten sich unterschiedlich in jenen Medien. Die besten Resultate ergeben auch hier wieder nach meinen Beobachtungen solche, die reich an glatter Muskulatur sind, wie Uterus vor allem. Das von K. LANDSTEINER hergestellte Verdauungsprodukt aus Rinderserum ist instande, Katzenschilddrüsen und Ovarien über eine Woche lang bei voller Wahrung der histologischen Strukturen am Leben zu erhalten. Wir haben Speicheldrüsen, Ovarien, Uterus, Herz und Lunge, in natürlichem Zusammenhang gelassen, Leber, Lymphknoten, Niere mit Ureter in solchen künstlichen Medien mit wechselndem Erfolg kultiviert (s. K. BAUER 1938); die verwandten Medien zeigten im wesentlichen dieselben Konstituentien, wie sie in den oben angegebenen Rezepten zu finden sind. Es konnte festgestellt werden, daß die Organe, welche von erwachsenen Katzen und jungen Meerschweinchen stammten, nach der Explantation in verschiedener Weise reagierten.

Nach CARREL können wir auf Grund der ersten Ergebnisse der Organexplantation folgende Einteilung vornehmen: Nach dem Verhalten in verdünntem Serum (im Verlaufe der eine Woche dauernden Explantation) zu urteilen, stehen an erster Stelle Arterien, Venen, Nebenschilddrüsen, Schilddrüsen, Sympathische Ganglien, Ovarien, Uteri, Lungen; sie

¹ Genauere Angaben siehe bei A. CARREL: The culture of organs, S. 64—71. 1938.

bleiben in normaler histologischer Verfassung. Milzen, Lymphknoten, Pankreas, Nebennieren, Hoden werden immer mehr oder weniger verändert in regressivem Sinne. Vollständige oder teilweise Degeneration jedoch zeigt die explantierte Niere, wobei auf die merkwürdige Tatsache hinzuweisen ist, daß das Nierenbeckenepithel sowie das Epithel des Ureters mit dem subepithelialen Bindegewebe immer in bester Verfassung bleibt, auch wenn das Parenchym der Rinde nekrotisch geworden ist. Explantierte Milzen haben wir mit besserem Erfolg explantiert für die Zeit von 5 Tagen in einem Medium, welches aus 20% Katzenserum, 676 mg-% WITTEs Pepton, Tyrodelösung mit dreifachem Glukosegehalt (ad 250,00 ccm) bestand (K. BAUER 1938).

Die funktionelle Aktivität des explantierten Organes läßt sich nicht nur am intakten Gewebe mikroskopisch erkennen und feststellen. p_H , welches zu Beginn der Versuche auf etwa 7,4—7,5 gebracht wird, sinkt im Verlaufe des ersten Tages bereits, wenn das Organ am Leben ist. Der eventuell eingetretene Tod ist schon an der gleichgebliebenen Größe des p_H nach 24 Stunden einwandfrei festzustellen. Die Größe der Wasserstoffionenkonzentration wird kolorimetrisch bestimmt oder genauer elektrometrisch. Für die kolorimetrische Bestimmung dient der Phenolrotzusatz.

Die osmotische Spannung der Nährlösungen wird bestimmt durch die Höhe der Gefrierpunkterniedrigung. Diese liegt in den verwandten Lösungen (Tyrode, Serum von Katze, Ratte, Kaninchen, Meerschweinchen und in den künstlichen Medien) etwa zwischen $-0,62$ und $-0,68$ bis $-0,70^\circ$ C. Die durch die dauernde Gaszufuhr (s. S. 469) gegebene Gefahr der Verdampfung von Wasser und der allmählichen Konzentrationszunahme der Lösung in der Pumpe besteht tatsächlich, wenn sie auch dadurch, daß das in das Reservoir der Pumpe einströmende Gasgemisch durch eine wasserhaltige Kammer zum Zwecke der Sättigung hindurchgetrieben wird, auf ein Minimum reduziert ist. Zunahme der Gefrierpunkterniedrigung um $0,01$ — $0,05$ ist nach einigen Tagen mitunter festzustellen. Um das zu vermeiden, kann man alle Medien leicht hypotonisch machen. Eine andere und bessere Möglichkeit, diesem Faktum zu begegnen, ist aber das Wechseln der Nährlösung nach 2—3 Tagen.

Der Glukoseverbrauch in den explantierten Organen ist von CARREL und BAKER bestimmt worden. Es hat sich gezeigt, daß er abhängig ist in seiner Größe von der Natur der durchströmenden Nährlässigkeit. Schilddrüsen von Katzen, die mit verdünntem (40%) Katzenserum durchströmt worden sind, wiesen einen täglichen Glukosekonsum von etwa 7 mg auf. Befand sich aber WITTEs Pepton in dem Medium, so war der Glukoseverbrauch für Katzenschilddrüsen ungefähr dreimal so hoch. Eine Schilddrüse (Katze) verbrauchte in toto während einer 9tägigen Explantation in einem komplexen Medium, welches 10% Serum und WITTEs Pepton enthielt, 141 mg Glukose, d. h. pro Tag 15,70 mg Glukose. Das zuführende Gasgemisch enthielt 21% Sauerstoff.

Das Kontrollorgan wog 92 mg. Hühnerschilddrüsen, die in dem künstlichen Medium A (s. oben) 3 Tage lang z. B. gezüchtet wurden, hatten einen Totalverbrauch an Glukose von etwa 285 mg, d. h. täglich konsumierten sie 95,00 mg. Das Gewicht des Kontrollorganes betrug 514 mg, das Endgewicht des explantierten Organes 406 mg. Das zuführende Gasgemisch enthielt 40% Sauerstoff. Mikroskopisch waren Zellproliferationen zu sehen. Das sind einige willkürlich herausgegriffene Beispiele der CARRELSchen Versuchsreihe (s. A. CARELL, 1938).

Ein besonderes Interesse beanspruchen die bei den Schilddrüsenexplantationen gefundenen physiologischen Ergebnisse hinsichtlich der Jodproduktion. Das Jod, welches von dem explantierten Organ sezerniert wird, erscheint im Medium teils an Thyreoglobulin gebunden und teils in anderer Form. Ein Teil des meßbaren Jodes wurde immer in dem proteinfreien Filtrat gefunden. Nach CARREL und BAKER ist das kein anorganisches Jod, denn es machte mitunter 80% des ursprünglichen Jodgehaltes der Drüse aus, sondern es ist wahrscheinlich gebunden an ein Zersetzungsprodukt des Thyreoglobulinmoleküles, welches offenbar durch Hydrolyse (Enzymwirkung) gespalten wird.

Die Jodproduktion der explantierten Katzenschilddrüsen nach Zusatz von thyreotropem Hormon zu dem Medium ist ebenfalls bestimmt worden. Zu diesem Zwecke wurden rechte und linke Drüse getrennt in zwei Pumpen explantiert und zwar in 40%igem Serum (homolog). In das Medium für die eine Drüse wurde ein bestimmter Betrag von thyreotropem Hormon gegeben. Die mit dieser Substanz behandelte Drüse war am Ende des Versuches weniger reich an Jod als die andere, die nur im Serum gezüchtet worden war. Das Medium, welches kein Hormon enthielt, war weniger reich an Jod als das hormonhaltige. Nach BAKER ist das Jod, welches durch die thyreotrope Hormonwirkung aus dem Explantat entfernt worden war, in dem globulinfreien Filtrat des Mediums zu finden. Nur wenig enthielt die Globulinfraktion. Diese Reaktion wurde bei Katzen- und Kaninchenorganen übereinstimmend festgestellt (CARREL, OKKELS). Es zeigte sich weiterhin, daß solche Drüsen, die thyreotropes Hormon im Medium enthielten, ein höheres Epithel und vakuolisierendes Kolloid aufwiesen.

Nach CARREL ist die Tatsache, daß der größte Teil des im Medium meßbar festzustellenden Jodes nicht an Thyreoglobulin gebunden ist, von Wichtigkeit. Das Jodthyreoglobulinmolekül ist nach CARREL viel zu groß, um in die Gewebezellen einzutreten. Nach BAKER wird das Thyreoglobulin auch in situ wahrscheinlich hydrolysiert, entweder beim Vorgang der Sekretion oder später in den Blutbahnen.

Die Eingeweide des Thorax sind nach der Explantation Gegenstand sehr eingehender Untersuchungen gewesen (K. BAUER). Es ist ohne weiteres klar, daß eine längere Aufrechterhaltung aller Lebensprozesse außerhalb des Körpers in diesen Organen der physiologischen und morphologischen Forschung mannigfaltige Angriffspunkte bieten würde. Isolierte Herzen,

und zwar Teilstücke von Katzenherzen sind von TERNI¹ untersucht worden. Die Zirkulation wurde von der Aorta aus, also durch die Art. coronariae hindurch, vorgenommen. Die sehr großen Wundflächen, aus denen der größte Teil der Flüssigkeit wieder abströmt, ohne durch das Kapillarsystem des Organfragmentes hindurchgegangen zu sein, sind ein Hindernis für Dauerzüchtung oder wenigstens für längere Züchtung. Nach wenigen Stunden gehen denn auch die Organe meistens zugrunde. D. h. es finden sich, abgesehen von den gefäß- oder besser kapillarnahen Gebieten, wo die Struktur intakt bleibt, bald Nekrosen oder Fragmentatio cordis. Solche Fragmente zeigen nach der Explantation arhythmische Kontraktionen und schließlich Flimmern.

Wir haben einen anderen Weg gewählt. Entweder nimmt man die Durchströmung vor von der Aorta aus und explantiert ganze Herzen von Meerschweinchen, oder noch besser man explantiert den gesamten Brustsitus möglichst vollständig. Dann wird die künstliche Durchströmung vorgenommen von der oberen Hohlvene aus. Meerschweinchenorgane eignen sich am besten zu diesem Zwecke. Wir haben diesen Modus der Explantation bereits beschrieben. Die untere Hohlvene läßt man offen, um überschüssigem Medium hier eine Abflußmöglichkeit zu schaffen und den rechten Vorhof nicht zu überdehnen. In die obere Hohlvene wird eine Glaskanüle eingebunden, und zwar so hoch, wie es möglich ist. Zerrungen und Dehnungen während der Operation an diesem bekanntermaßen sehr empfindlichen Punkte des Herzens (Sinusknoten usw.) können die Funktion des Organes in vitro beträchtlich beeinflussen. Die von dem Aortenbogen abgehenden großen Gefäße werden sorgfältig ligiert und die Aorta möglichst tief, d. h. etwa dort, wo die Aorta thoracica in die A. abdominalis übergeht, durchschnitten. Diese operativen Manipulationen sind noch unvollständig, denn der notwendige Druck im Sinus Valsalvae zur Durchströmung des Koronarkreislaufes ist etwas niedrig, weil die Aorta offen bleibt. Andere mögliche Maßnahmen zur Überwindung dieses Nachteiles lassen sich leicht einführen. Hier beschreiben wir zunächst die Ergebnisse nach dem angegebenen Explantationsverfahren.

Das auffälligste und wichtigste Faktum ist dabei, daß das explantierte, von der oberen Hohlvene aus durchströmte Herz in stande ist, den ganzen kleinen Kreislauf für wenigstens 24 Stunden lang *bei normaler, regulärer Tätigkeit* aufrechtzuerhalten. Das Herz (Meerschweinchen) schlägt regelmäßig etwa 140 mal in der Minute, die Lunge füllt sich mit Nährflüssigkeit und schwillt beträchtlich an. Ihre einzelnen Lappen stehen schließlich starr voneinander ab. Das gesamte Volumen des Organes nimmt zu infolge der durch die Ligatur der Trachea gegebenen Unmöglichkeit, daß die Residualluft der Lunge entweichen kann. Die Lungen sind mächtig vergrößert und starr. Mikroskopisch finden sich um jene Zeit

¹ Beschrieben bei A. CARREL: The culture of whole organs. New York 1938.

der Explantation — es handelt sich um die ersten 10 Stunden — erweiterte Gefäß- und Kapillarlumina und mäßiges, beginnendes, interstitielles Ödem. Die maximale Schwellung ist bereits nach 3—7 Stunden erreicht oder auch nach längerer Zeit. Nach 24 Stunden ändert sich das Bild: Die Lunge kollabiert regelmäßig, da die Residualluft nun resorbiert worden ist, es kommt zu mehr oder weniger vollständiger Atelektase. Die Herztätigkeit wird nach 24—26 Stunden gewöhnlich irregulär, die Kontraktionen werden schwächer, sie können durch plötzliche Steigerung des Druckes der Pumpe und plötzliches Nachlassen desselben vorübergehend wieder gebessert werden. Selbstverständlich bieten sich in diesem Zustande die mannigfaltigsten Möglichkeiten, mit pharmakologischen Mitteln einzugreifen (Digitalis, Adrenalin).

Die Herztätigkeit ist in hohem Grade abhängig von der Nährbodenzusammensetzung. In der jederzeit leicht zu kontrollierenden Herztätigkeit haben wir einen sehr wichtigen Indikator, der uns über die Güte oder Verwendungsfähigkeit der verschiedenen Medien orientiert. Wir haben ausschließlich mit künstlichen Medien gearbeitet in diesen Fällen, welche den oben beschriebenen ähnlich sind und ebenfalls von L. BAKER im CARRELSCHEN Laboratorium hergestellt worden sind (siehe K. BAUER 1938). Bisher ist es uns nicht gelungen, Brustsitusexplantate, d. h. Herz und Lunge, in natürlichem Zusammenhang länger als 4—5 Tage bei intakter Struktur und Funktion am Leben zu erhalten. Nach dieser Zeit finden sich regelmäßig regressive Veränderungen in den Teilen, besonders im Herzen, während Tracheal- und Bronchialepithel, Knorpel und die Gefäße noch längere Zeit intakt bleiben und normale Struktur aufweisen.

Bei der Verwendung künstlicher Nährböden, welche verdautes Eiweiß nach BAKER oder K. LANDSTEINER enthielten, zeigte sich regelmäßig als auffälligstes Anfangssymptom eine ödematöse Schwellung des ganzen Explantates. Diese initiale Schwellung war am größten, wenn der Nährboden WITTEs Pepton, verdautes Blut oder verdautes Serum und Tryptophan enthielt. Sie erreichte bereits wenige Stunden nach begonnener Explantation ihre maximale Größe, und zwar derart, daß das Organ auf das Doppelte und Dreifache seines Volumens sich vergrößerte. Das gilt für Schilddrüsen, Milzen, Lymphknoten, Ovarien, Speicheldrüsen. Die glatte Muskulatur zeigt in solchen Fällen (Uterus) keine Beteiligung an dem Vorgang, die Kerne sind ebenso dicht gelagert wie im Kontrollpräparat. Das ist auffällig. Die glatte Muskulatur ist überhaupt, nach den bisherigen Befunden zu urteilen, am besten geeignet, den in dem neuen Lebensraum und Nährboden gegebenen Bedingungen sich anzupassen.

Dieses initiale Ödem geht im Laufe der weiteren Explantation wieder zurück; nach 3 Tagen kann das Organ wieder annähernd normale Größe erreichen. Wir sehen in diesem initialen Ödem eine wichtige vitale Reaktion, eine Antwort des explantierten Gewebes auf die veränderten Lebensbedingungen. Als weitere vitale Reaktionen konnten in Organexplantaten

(Lymphknoten) nachgewiesen werden Fähigkeit zu Trypanblauspeicherung und Immigration kleiner Lymphozyten in künstlich gesetzte nekrotische Kieselgurherde (K. BAUER).

Eines der wichtigsten Ergebnisse der bisherigen Organexplantation scheint uns die Tatsache zu sein, daß die Organe im gleichen Medium ganz verschieden reagieren, oder noch präziser ausgedrückt, daß die einzelnen *Organgewebe* verschieden reagieren. Als auffälligstes Beispiel sei auf die Niere verwiesen, die sich bisher als am wenigsten geeignet erwiesen hat, länger als 2—3 Tage zu überleben. Die Nierenbeckenschleimhaut jedoch sowie diejenige des Ureters zeigen immer tadellos erhaltene histologische Struktur, niemals konnten auch in total nekrotisch gewordenen Nieren Nekrosen des Nierenbeckenepithels wahrgenommen werden. Das ist ein sehr auffälliger Befund. Ähnliches gilt für die Leber, die auch sehr schwer zu züchten ist. Die Gallengänge sind tadellos erhalten, auch wenn das Leberparenchym tot ist. Aber hier spielen rein mechanische Vorgänge, wie die Unmöglichkeit, in einem resezierten Leberstück infolge der großen Wundflächen einen geschlossenen Kreislauf zu schaffen, eine Rolle.

Die Tatsache des sehr guten Verhaltens glatter Muskulatur einerseits und des schwierig zu züchtenden Nierengewebes andererseits weist darauf hin, daß die Organgewebe offenbar ihre besonderen Ansprüche an den Nährboden stellen. Im Sinne der einleitend gegebenen Fragestellung handelt es sich denn auch jetzt vorwiegend darum, die zu einem bestimmten Zellterritorium gehörigen flüssigen Bestandteile zu erforschen, ihre optimale Zusammensetzung zu studieren und ausfindig zu machen. Aus diesem Grunde wird die Blutwirkung vollständig ausgeschaltet und werden Nährböden von bekannter Zusammensetzung angewendet. Damit ist die technische Möglichkeit gegeben und die Voraussetzung geschaffen, ähnlich wie in der Gewebekultur von den quantitativen und qualitativen Verhältnissen der flüssigen Bestandteile eines Zellterritoriums, die sich nach dem oben zitierten Ausspruch von BENEKE bisher einer genauen Analyse entzogen haben, ein Bild zu erhalten. Diese methodische Aufgabe ist gerade gestellt und noch weit davon entfernt, endgültig gelöst zu sein. In dem CARRELSchen Verfahren der Explantation haben wir das bisher einzige Mittel in der Hand, diese Fragen experimentell anzugehen.

F. Schlußbetrachtung.

Die Phänomene *in vitro* kennzeichnen wir ganz allgemein als „transindividuelle“ Lebensvorgänge. Die „sekundären Potenzen“ bilden ihre Basis (s. S. 445). Die hier gegebenen Erörterungen sollten zunächst, wie einleitend betont worden ist, ausschließlich der organischen Form gewidmet sein, dem Problem des Wachstums und der Formerhaltung unter Ausschaltung spezieller Fragen der Physiologie, Pharmakologie, Pathologie usw. *Eine entwicklungsmechanische und eine erhaltungs-*

mechanische Aufgabe hat die Explantation in vitro zunächst zu lösen (s. S. 343).

Gradweise Komplizierung, Verschiedenwerden der Teile in bezug aufeinander ist, wie ausführlicher diskutiert wurde (s. S. 446 ff.), das hauptsächlichste Kriterium desjenigen Geschehens, welches von der befruchteten Eizelle zum fertig entwickelten Organismus hinführt. Nach W. HIS ist dieser Vorgang der Formbildung, wie wir ihn deskriptiv bis in alle Einzelheiten hinein genau erfaßt haben, eine Art „Übersetzung aus der uns unleserlichen Sprache des wirklichen Geschehens in unsere Sprache der Sinneswahrnehmung“, eine Übersetzung, mannigfach verzerrt und in hohem Grade unvollständig. „Wir kennen das Wachstum nur aus seiner Äußerung, der Massenzunahme; seine inneren Bedingungen, seine Beziehungen zu anderen Lebensprozessen, speziell zu denjenigen der Ernährung, kennen und verstehen wir nicht und werden wir auch nicht so bald verstehen“ (W. HIS 1871).

Unterdessen ist die Forschung weiter fortgeschritten. Zwei wichtige Entdeckungen sind hier in erster Linie zu nennen: Die Methoden der Entwicklungsmechanik (ROUX, SPEMANN, MANGOLD, W. VOGT, DÜRKEN) und die Methode der Explantation in vitro (HARRISON, W. H. LEWIS, CARREL und EBELING, BURROWS). Mit der Entdeckung des Organisatoreffektes, der homogenen und der heterogenen Induktion (SPEMANN) ist Licht in das komplizierte Entwicklungsgeschehen in situ gebracht worden, konnten die mannigfaltigen korrelativen Bindungen verschiedenwertiger embryonaler Teile untereinander aufgeklärt werden. In vitro dagegen haben wir es vorwiegend mit einer einzigen Korrelation zu tun, derjenigen zwischen lebendem Gewebe (Reinkultur) und Nährboden.

Damit ergeben sich neue Möglichkeiten der Untersuchung der eingangs angeschnittenen Problematik. Die Frage des neuen künstlichen Lebensraumes für das Explantat steht im Mittelpunkt der ganzen Züchtungsforschung, wobei dem Nährboden speziell die größte Bedeutung zukommt. Die CARRELSche These von der dynamischen Einheit: Kern – Protoplasma – Gewebeflüssigkeit, die untrennbar ist und von einer vorwiegend analytisch eingestellten, nur die soliden Bestandteile des toten Körpers berücksichtigenden Wissenschaft zerrissen worden ist, wird diskutiert (s. S. 342), ihr Wert als Arbeitshypothese erörtert. Die Frage der Beziehung des Wachstums, der Formbildung zu anderen Lebensprozessen, wie Ernährung, ist für die Explantation von besonderer Bedeutung und Wichtigkeit, weiterhin die Beziehungen zwischen Ernährung und Reizung als formbildenden Kräften.

Die erhaltungsmechanische Aufgabe der Organexplantation führt in ein neues Gebiet. Damit aufs engste zusammen hängen die Probleme des physiologischen Alterns. Die Methode der Organexplantation steht heute noch am Anfang, etwa dort, wo die Gewebezüchtung im Jahre 1909 stand. Künftigen Forschungen und intensiven Arbeiten wird es vorbehalten bleiben, die wissenschaftliche Leistungsfähigkeit dieser neuen

Methode für die verschiedenen Fragen der Morphologie, Physiologie und Pathologie zu erweitern und schließlich ihre klinische Anwendungsfähigkeit zu prüfen.

Herrn Prof. Dr. W. VOGT spreche ich für die mannigfaltigen Anregungen zur Gestaltung dieser zusammenfassenden Darstellung meinen ergebensten und herzlichsten Dank aus.

Literatur.

- ADACHI, A.: Über die Züchtung von Linseneithelien in vitro. Arch. exper. Zellforsch. **10** (1931).
- AKAMUTSU, N.: Über Gewebekulturen von Lebergewebe. Virchows Arch. **240** (1922).
- AMOROSO, E.: Die Züchtung von Epithel des embryonalen Hühnerpankreas. Arch. exper. Zellforsch. **12** (1932).
- ANDAI, G.: Wachstum und Lebensdauer reiner Fibroblastenkulturen im Embryonalplasma. Arch. exper. Zellforsch. **12** (1932).
- ASCHOFF, L.: Die lymphatischen Organe. Med. Klin. **1926 I**.
- Die lymphatischen Organe. Ref. gehalten auf der 46. Tagg Anat. Ges. Leipzig 1938.
- Zur normalen und pathologischen Anatomie des Greisenalters. Wien u. Berlin: Urban & Schwarzenberg 1938.
- AWROROW, P. u. A. D. TIMOFEJEWSKY: Kultivierungsversuche von leukämischem Blute. Virchows Arch. **216** (1914).
- BAITSELL, G.: The origin and structure of a fibrous tissue which appears in living cultures of adult frog tissues. J. of exper. Med. **21** (1915).
- A study of the clotting of the plasma of frogs blood and the transformation of the clot into a fibrous tissue. Amer. J. Physiol. **44** (1917).
- A new culture medium for tissues grown in vitro. Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. **23** (1925).
- Additional evidence as to the intercellular formation of connective tissue. Proc. nat. Acad. Sci. U.S.A. **13** (1927).
- BAKER, L.: The chemical nature of the substances required for cellmultiplication. II. Action of glutathione, hemoglobin, and ash of liver on the growth of fibroblasts. J. of exper. Med. **49** (1929).
- Artificial media for the cultivation of fibroblasts, epithelial cells and monocytes. Science (N. Y.) **83** (1936).
- and CARREL A.: Lipoids as the growth-inhibiting factor in serum. J. of exper. Med. **42** (1925).
- Action on fibroblasts of the protein fraction of embryonic tissue extract. J. of exper. Med. **44** (1926).
- Effects of the amino acids and dialysable constituents of embryonic tissue juice on the growth of fibroblasts. J. of exper. Med. **44** (1926).
- Au sujet du pouvoir inhibiteur du serum pendant la vieillesse. C. r. Soc. Biol. Paris **95** (1926).
- The effect of digests of pure proteins on cell proliferation. J. of exper. Med. **47** (1928).
- and A. EBELING: Maintenance of fibroblasts in artificial and serumless media. Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. **39** (1938).
- BAKKER, A.: Die Regeneration der verwundeten Linsenkapself von Kaninchenlinsen in der Durchströmungskultur. Graefes Arch. **135** (1936).
- Eine Methode, die Linsen erwachsener Kaninchen außerhalb des Körpers am Leben zu erhalten. Graefes Arch. **135** (1936).

- BAKKER, A.: The behaviour of a rabbit lens and iris in a perfused culture. *Acta nederl. Morph. norm. et path.* **1** (1937).
- BARTA, E.: Experimental histological studies. I. Some factors regulating the morphology of tissues (ureter in vitro). *Anat. Rec.* **29** (1924).
- Deficient oxydation as a cause of giant cell formation in tissue cultures of lymph nodes. *Arch. exper. Zellforsch.* **2** (1925).
- and L. PETROVITS: The morphology of the tissues of adult organism in vitro. *Arch. exper. Zellforsch.* **6** (1928).
- BAUER, KARL: Beobachtungen über das Wachstum von Nervengewebe in vitro. *Z. mikrosk.-anat. Forsch.* **28** (1932).
- Über die Bedeutung der Gewebezüchtung für die Histogenese. *Z. mikrosk.-anat. Forsch.* **28** (1932).
- Über die Beziehungen zwischen Zelle und Interzellulärsubstanz im embryonalen Bindegewebe und die Lehre von den mesenchymalen Keimlagern im wachsenden Organismus. *Z. mikrosk.-anat. Forsch.* **35** (1934).
- Interzellulärsubstanzbildung und Mesenchymbegriff. *Klin. Wschr.* **1934 I**.
- Über Wachstum und Differenzierung in der Ontogenese unter physiologischen und pathologischen Bedingungen. *Verh. dtsh. path. Ges. Gießen* **1935**.
- Über das Verhalten embryonaler Gewebe nach schädigenden Einwirkungen. *Verh. dtsh. anat. Ges. Jena* **1935**.
- Über pathologische Reaktionen im embryonalen Organismus nach Einwirkung chemischer und physikalischer Mittel. *Virchows Arch.* **294** (1935).
- Über die kontinuierlichen Gitterbildungen in den Nervengewebskulturen. *Z. mikrosk.-anat. Forsch.* **39** (1936).
- Über das Verhalten von Kieselgurgranulomgewebe im Explantat und die Reaktionsweise embryonaler Gewebe in vitro nach Kieselgurzusatz. *Z. mikrosk.-anat. Forsch.* **40** (1936).
- Zur Histologie der Nervenkulturen. *Verh. dtsh. anat. Ges. 24. Tagg IV. internat. anat. Kongreß Mailand* **1936**.
- Der Neurencytiombegriff. *Z. mikrosk.-anat. Forsch.* **43** (1938).
- Untersuchungen an explantierten ganzen Organen. *Roux' Arch.* **137** (1938).
- Untersuchungen an explantierten Organen. II. *Z. mikrosk.-anat. Forsch.* **43** (1938).
- Über Epithelformationen in den Nervenkulturen und ihre histogenetischen Potenzen. *Roux' Arch.* **138** (1938).
- Über das Neuroepithel und seine Differenzierungsfähigkeit in der Kultur. *Arch. exper. Zellforsch.* **22** (1938). — *Internat. Zellforsch.kongr. Zürich.*
- Über Milzexplantation. *Arch. exper. Zellforsch.* **22** (1938).
- Über neue Explantationsmethoden. *Verh. dtsh. anat. Ges. Leipzig* **1938**.
- BAUTZMANN, H.: Die Bedingungen der embryonalen Gestaltung. *Zbl. Path.* **63, Erg.-H.** (1935).
- Über Züchtung von Organanlagenstücken junger Embryonalstadien von Urodelen und Anuren in Bombinator-Hautbläschen. *Sitzgsber. Ges. Morph. u. Physiol. München* **39** (1929).
- BENEWOLENSKAJA, S. W.: Hematopoiesis in cultures of the embryonic liver of man. *Arch. exper. Zellforsch.* **9** (1929).
- Über die in vitro-Reaktion der embryonalen Gewebe und Leukocyten des Menschen auf Leprabazillen. *Arch. exper. Zellforsch.* **13** (1932).
- BERGEL, S.: Zur Wandlungsfähigkeit der Lymphocyten. *Arch. exper. Zellforsch.* **9** (1929).
- BIER, A.: Beobachtungen über Regeneration am Menschen. *Dtsch. med. Wschr.* **1917, 1918, 1919**.

- BIELSCHOWSKY, W.: Allgemeine Histologie und Histopathologie des Nervensystems. Handbuch der Neurologie, Bd. I. 1935.
- BINET et CHAMPY: Sur les cultures des poumons in vitro. C. r. Soc. Biol. Paris **94** (1926).
- BISCEGLIE, V.: Die Faktoren der organischen Entwicklung. I. Mitteilung: Wirkung der Vitamine auf die Entwicklung der Gewebeeplantate „in vitro“. Roux' Arch. **108** (1926).
- Culture in vitro di sangue. La capacità evolutiva dei monociti e dei linfociti. Boll. Sci. med. **101** (1929).
- Studi sui tessuti explantati. I. Ricerche sulla morfologia e biologia delle cellule epatiche ed endoteliali in culture di fegato embrionale. Arch. exper. Zellforsch. **10** (1931).
- BISCEGLI, V. u. ALFIO DI GRAZIA: L'azione del 1:2 benzopirene sulle cellule crescenti in cultura in vitro. Acta cancrol. (Budapest) **2** (1936).
- BISCEGLI u. A. JUHASZ-SCHÄFFER: Die Gewebezüchtung in vitro. Monographien Physiol. **14** (1928).
- BLASZO, A.: On tissue cultures of the skin of the rabbit. Arch. exper. Zellforsch. **12** (1932).
- BLOOM, W.: The hemopoetic potency of the small lymphocyte. Fol. haemat. (Lpz.) **33** (1926).
- Transformation of lymphocytes of thoracic duct into polyblasts (macrophages) in tissue cultures. Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. **24** (1927).
- Über die Verwandlung der Lymphocyten der Lymphgefäße des Ductus thoracicus des Kaninchens in Polyblasten (Makrophagen) in Gewebekulturen. Zbl. Path. **40** (1927).
- Mammalian lymph in tissue culture. From lymphocyte to fibroblast. Arch. exper. Zellforsch. **5** (1928).
- Development of elastic fibers in cultures of embryonic heart muscle. Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. **26** (1929).
- Studies on fibers in tissue culture. II. The development of elastic fibers in cultures of embryonic heart and aorta. Arch. exper. Zellforsch. **9** (1929).
- Cellular differentiation and tissue culture. Physiologic. Rev. **17** (1937).
- Transformation of lymphocytes into granulocytes in vitro. Anat. Rec. **69** (1937).
- and RUTH H. SANDSTROM: Development of connective tissue fibers in epithelium-containing cultures. Anat. Rec. **64** (1935).
- BOEKE, J.: Nervenregeneration. Handbuch der Neurologie, Bd. I. Berlin 1935.
- BÖRNER, R.: Histogenetische und zellanalytische Untersuchungen an explantierter Meerschweinchenmilz. Arch. exper. Zellforsch. **12** (1931).
- u. G. HERZOG: Zellstudien an explantierten Organen. Zbl. Path. **44** (1928/29).
- BOFILL-DEULOFEU, J.: Die argyrophilen Faserstrukturen in mesenchymalen Gewebekulturen von verschiedener Herkunft und von verschiedener Wachstumsgeschwindigkeit. Z. Zellforsch. **14** (1932).
- BORGHESE, E.: Osservazioni sulle cellule grasse delle culture di tessuto nervoso. Arch. exper. Zellforsch. **21** (1938).
- BORREL, A.: Cytology du sarcome de PEYTON ROUS et substance spécifique. C. r. Soc. Biol. Paris **94** (1926).
- Technique simple pour la culture de tissus normaux ou des cellules cancéreuses. C. r. Soc. Biol. Paris **95** (1926).
- Technique de cultures cellulaires étalées en lames minces pour l'étude cytologique de tissus normaux ou cancéreux. Bull. Assoc. franç. Étude Canc., **16** (1927).
- BRACHET A.: Développement in vitro des blastodermes des jeunes embryons de mammifères. C. r. Acad. Sci. Paris. **155** (1912).

- BRACHET, A.: Recherches sur le déterminisme héréditaire de l'oeuf des mammifères. Développement «in vitro» des jeunes vesicules blastodermiques de lapin. Archives de Biol. 28 (1913).
- BRAUS, H.: Die Entstehung der Nervenbahnen. Verh. Ges. dtsh. Naturforsch. 1 (1911).
- Demonstration und Erläuterung von Deckglaskulturen lebender Embryonalzellen und Organe. Naturhist. Med. Ver. Heidelberg. Münch. med. Wschr. 1911 II.
- Methoden der Explantation. ABDERHALDENs Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden, Bd. 5/III. 1922.
- BUCCIANTE, L.: Sulla sopravvivenza alle basse temperature (fino a -25°) dei vari tessuti di embrioni di pollo di cui fu interrotta l'incubazione. Arch. exper. Zellforsch. 11 (1931).
- Ulteriori ricerche sulle condizioni più adatte alla sopravvivenza dei vari tessuti embrionali di pollo alla morte dell'organismo. Arch. exper. Zellforsch. 24 (1933).
- BUCH-ANDERSEN, E. u. A. FISCHER: Über die Wachstums- und Hemmungsfunktion bei Gewebekulturen in vitro. Roux' Arch. 114 (1929).
- BUCHSBAUM, R.: Size of explant and volume of medium in tissue cultures. J. of exper. Zool. 63 (1932).
- Chick tissue cells and Chlorella in mixed cultures. Physiologic. Zool. 10 (1937).
- BUNTING and EADES: The effect of mechanical tension upon the polarity of growing fibroblasts. J. of exper. Med. 44 (1926).
- BURKHARDT, L.: Beobachtungen an explantiertem Fettgewebe. Arch. exper. Zellforsch. 16 (1934).
- Differenzierung von Skelettmuskel im Explantat. Arch. exper. Zellforsch. 18 (1936).
- BURROWS, H. JACKSON: The intercellular product of a pure culture of osteogenic cells in vitro. Arch. exper. Zellforsch. 4 (1933).
- BURROWS, M. T.: The growth of tissues of the chicken embryo outside of the animal body, with special reference to the nervous system. J. of exper. Zool. 10 (1911).
- Some factors regulating growth. Anat. Rec. 11, 335 (1917).
- The reserve energy of actively growing embryonic tissues. Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. 18 (1921).
- Studies on cancer. I. The effect of circulation on the functional activity, migration and growth of tissue cells. Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. 21 (1923) and ebenda II.
- Die Bewegung des Epithels der Haut. Arch. exper. Zellforsch. 1 (1925).
- Energy production and transformation in protoplasm as seen through a study of the mechanism of migration and growth of body cells. Amer. J. Anat. 37 (1926).
- A study of certain general conditions leading to the differentiation of cells. Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. 27 (1929).
- BURROWS, BURNS and SUZUKI: Studies of the growth of cells. The cultivation of bladder and prostatic tumours outside the body. J. of Urol. 1, 3 (1917).
- M. and NEYMANN: Studies on the metabolism of cells in vitro. J. of exper. Med. 25 (1917).
- BUSSE, O.: Auftreten und Bedeutung der Rundzellen bei den Gewebekulturen. Virchows Arch. 229 (1920).
- Welcher Art sind die Rundzellen, die bei den Gewebekulturen auftreten? Virchows Arch. 239 (1922).
- CAFFIER, P.: Über die Umwandlungsfähigkeit der weißen Elemente des normalen menschlichen Blutes bei in vitro-Kulturen. Arch. exper. Zellforsch. 4 (1927).

- CAFFIER, P.: Die protektiven Potenzen des normalen Menschenblutes. Arch. exper. Zellforsch. **6** (1928).
- Über das Verhältnis der Zellachse zur Achse der Teilungsspindel bei der Mitose menschlicher Zellen in vitro. Arch. exper. Zellforsch. **10** (1930).
- Das Mesenchymgewebe der menschlichen embryonalen Lunge, besonders auf Wuchsform und Chromosomenbestand hin untersucht. Arch. exper. Zellforsch. **11** (1931).
- Gewebekultur und elektrischer Strom. Arch. exper. Zellforsch. **13** (1932).
- CAJAL, R. Y: Die Neuronenlehre. Handbuch der Neurologie, Bd. I. 1935.
- Les preuves objectives de l'unité anatomique des cellules nerveuses. Trav. Labor. Recherch. biol. Univ. Madrid **29** (1935).
- CALO, A.: Beitrag zur wachstumsregenden und wachstumsfördernden Wirkung von Nekrohormonen aus Kulturen normaler und neoplastischer Gewebe. Z. Krebsforsch. **35** (1932).
- CARREL, A.: Latent life of arteries. J. of exper. Med. **12** (1910).
- Pure culture of cells. J. of exper. Med. **16** (1912).
- Technique for cultivating a large quantity of tissue. J. of exper. Med. **15** (1912).
- Contributions to the study of the mechanism of the growth of connective tissue. J. of exper. Med. **18** (1913).
- Present condition of a two years old strain of connective tissue. Berl. klin. Wschr. **1914 II**.
- Growth promoting function of leucocytes. J. of exper. Med. **36** (1922).
- Measurement of the inherent growth energy of tissues. J. of exper. Med. **38** (1923).
- Les cultures pures de cellules en physiology. C. r. Soc. Biol. Paris **89** (1923).
- Tissue culture and cell physiology. Physiologic. Rev. **4** (1924).
- Leucocytic trephones. J. amer. med. Assoc. **82** (1924).
- Rôle des tréphones leucocytaires. C. r. Soc. Biol. Paris **90** (1924).
- Energie intrinsèque et énergie résiduelle des tissus. C. r. Soc. Biol. Paris **90** (1924).
- Diminution artificielle de la concentration des protéines du plasma pendant la vieillesse. C. r. Soc. Biol. Paris **90** (1924).
- La malignité des cultures pures de monocytes du sarcome de Rous. C. r. Soc. Biol. Paris **91** (1924).
- Action de l'extrait filtré du sarcome de Rous sur les macrophages du sang. C. r. Soc. Biol. Paris **91** (1924).
- Action de l'extrait filtré du sarcome de Rous sur les macrophages du culture de fibroblastes. C. r. Soc. Biol. Paris **92** (1924).
- Comparaison des macrophages normaux et des macrophages transformées en cellules malignes. C. r. Soc. Biol. Paris **92** (1925).
- La genèse des sarcomes. C. r. Soc. Biol. Paris **93** (1925).
- Le principe filtrant des sarcomes de la poule produits par l'arsénic. C. r. Soc. Biol. Paris **93** (1925).
- Action du principe filtrant d'un sarcome du goudron sur les cultures de rat. C. r. Soc. Biol. Paris **93** (1925).
- Au sujet de la technique de la culture des tissus. C. r. Soc. Biol. Paris **96** (1927).
- La cytologie nouvelle. C. r. Soc. Biol. Paris **96** (1927).
- Le rôle des macrophages dans la croissance d'un sarcome du rat. C. r. Soc. Biol. Paris **97** (1927).
- Modern techniques of tissue culture and results. Arch. exper. Zellforsch. **6** (1928).
- Maintien de la constance du milieu dans les cultures de tissus. C. r. Soc. Biol. Paris **106** (1931).

- CARREL, A.: Technique pour l'étude simultanée des propriétés structurales et fonctionnelles des cellules. C. r. Soc. Biol. Paris 117 (1934).
- Le présent et l'avenir de la cytologie expérimentale. Arch. exper. Zellforsch. 19 (1937) (4. internat. Zellforsch.kongr. Kopenhagen).
- and L. BAKER: The chemical nature of substances required for cell multiplication. J. of exper. Med. 44 (1927).
- Le rôle des produits de l'hydrolyse incomplète de la fibrine dans la prolifération cellulaire. C. r. Soc. Biol. Paris 96 (1927).
- and M. BURROWS: La culture des tissus adultes en dehors de l'organisme. C. r. Soc. Biol. Paris 69 (1910).
- An addition to the technique of the cultivation of tissues in vitro. J. of exper. Med. 14 (1911).
- — An addition to the technique of the cultivation of tissues in vitro. J. of exper. Med. 14 (1911).
- Die Technik der Gewebeskultur in vitro. ABDERHALDENS Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden, Bd. 5. 1913.
- and A. EBELING: The multiplication of fibroblasts in vitro. J. of exper. Med. 34 (1921).
- — Heterogenetic serum, age and multiplication of fibroblasts. J. of exper. Med. 35 (1922).
- — Heat and growth inhibiting action of serum. J. of exper. Med. 35 (1922).
- — Action of shaken serum on homologous fibroblasts. J. of exper. Med. 36 (1922).
- — Pure cultures of large mononuclear leucocytes. J. of exper. Med. 36 (1922).
- — Leucocytic secretions. J. of exper. Med. 36 (1922).
- — Antagonistic growth principles of serum and their relation to old age. J. of exper. Med. 38 (1923).
- — Survival and growth of fibroblasts in vitro. J. of exper. Med. 38 (1923).
- — Action on fibroblasts of extracts of homologous and heterologous tissues. J. of exper. Med. 38 (1923).
- — Action of serum on lymphocytes in vitro. J. of exper. Med. 38 (1923).
- — Tréphones embryonnaires. C. r. Soc. Biol. Paris 89 (1923).
- — Survie et croissance des tissus in vitro. C. r. Soc. Biol. Paris 89 (1923).
- — Action du sérum sanguin sur les lymphocytes. C. r. Soc. Biol. Paris 89 (1923).
- — Tréphones leucocytaires et leur origine. C. r. Soc. Biol. Paris 89 (1923).
- — The fundamental properties of the fibroblasts and the macrophages. I. The fibroblasts. J. of exper. Med. 44 (1926).
- — II. The macrophages. J. of exper. Med. 44 (1926).
- — The transformation of monocytes into fibroblasts through the action Rous virus. J. of exper. Med. 43 (1926).
- — The fundamental properties of the fibroblast and the macrophage. III. The malignant fibroblast of the sarcoma 10 of the Crocker Foundation. J. of exper. Med. 48 (1928).
- — IV. The malignant fibroblast of JENSEN sarcoma. J. of exper. Med. 48 (1928).
- and CH. LINDBERGH: The culture of organs. New York 1938.
- CASTREN, H.: Züchtungsversuche mit menschlichem Gewebe. Acta path. scand. (Københ.) 5 Suppl. (1930).
- CHAMBERS, R.: Changes in protoplasmic consistency and their relation to cell division. J. gen. Physiol. 2 (1919).
- The physical structure of protoplasm as determined by micro-dissection and injection. Cowdry's General Cytologie 1924.

- CHAMBERS, R.: The chemotactic reaction of leucocytes to foreign substances in tissue cultures. *J. cellul. a. comp. Physiol.* **8** (1936).
- and C. GRAND: The chemotactic reaction of leukocytes to irritated tissues. *J. cellul. a. comp. Physiol.* **9** (1936).
- LYLE, V. BECK and MORRIS BELKIN: Secretion in tissue cultures. I. Inhibition of phenol red accumulation in the chick kidney. *J. cellul. a. comp. Physiol.* **6** (1935).
- CHAMPY, C.: La dédifférenciation des tissus cultivés en dehors de l'organisme. *Bibl. anat.* **33** (1913).
- Quelques résultats de la méthode de culture des tissus. I. Généralités. II. Le muscle lisse. Note préliminaire. *Archives de Zool. expér. et gen.* **53** (1913).
- Réapparition d'une prolifération active dans les tissus différenciés d'animaux adultes cultivés en dehors de l'organisme. *Bull. de l'assoc. p. l'étude du cancer* **75** (1913).
- La présence d'un tissu antagoniste maintient la différenciation d'un tissu cultivé en dehors de l'organisme. *C. r. Soc. Biol. Paris* **76** (1914).
- Sur les cultures d'épithélium germinatif in vitro. *C. r. Soc. Biol. Paris* **94** (1926).
- et J. MORITA: Recherches sur les cultures des tissus. Observations sur les cultures de testicule et d'ovaire chez les mammifères, les oiseaux et les Batrachiens. *Arch. exper. Zellforsch.* **5** (1928).
- CHLOPIN, N.: Über in vitro-Kulturen der embryonalen Gewebe der Säugetiere. *Arch. mikrosk. Anat.* **96** (1922).
- Über in vitro-Kulturen von Geweben der Säugetiere, mit besonderer Berücksichtigung des Epithels. I. Kulturen der Submaxillaris. *Virchows Arch.* **243** (1923).
- Studien über Gewebekulturen im artfremden Blutplasma. I. Allgemeines. II. Das Bindegewebe der Wirbeltiere. *Z. mikrosk.-anat. Forsch.* **2** (1925).
- Über die Verwandlungen des Epithels der Bauchspeicheldrüse in Gewebekulturen. *Arch. exper. Zellforsch.* **9** (1929).
- Studien über Gewebekulturen im artfremden Blutplasma. V. Das Verhalten und die Verwandlungen des menschlichen Mesenchyms im Explantat. *Arch. exper. Zellforsch.* **12** (1931).
- Über in vitro-Kulturen des menschlichen Mesenchyms. *Arch. exper. Zellforsch.* **11** (1931).
- Über einige Wachstums- und Differenzierungserscheinungen an der embryonalen menschlichen Epidermis im Explantat. *Roux' Arch.* **126** (1932).
- u. A. CHLOPIN: Studien über Gewebekulturen im artfremden Blutplasma. III. und IV. *Arch. exper. Zellforsch.* **1** (1925).
- CHLOPKOW, A. M.: Intestinal epithelium of the adult rabbit in cultures in vitro. *Arch. Zellforsch.* **10** (1931).
- CLARA, M.: Vergleichende Histobiologie des Nierenglomerulus und der Lungenalveole. Nach Untersuchungen beim Menschen und beim Kaninchen. *Z. mikrosk.-anat. Forsch.* **40** (1936).
- CLARK, E. R.: Growth and development of function in blood vessels and lymphatics. *Ann. int. Med.* **9** (1936).
- and ELEANOR LINTON CLARK: Observations on changes in blood vascular endothelium in the living animal. *Amer. J. Anat.* **57** (1935).
- — and RICHARD O. REX: Observations on polymorphonuclear leucocytes in the living animal. *Amer. J. Anat.* **59** (1936).
- COSTERO, J.: Studien an Mikrogliazellen (sog. Hortegazellen) in Gewebekulturen von Gehirn. *Arb. Staatsinst. exper. Ther. Frankf.* **23** (1930).
- CRACIUN, E. C.: Observations sur les mouvements des cellules épithéliales en cultures de tissus et sur le rôle du stéréotropisme. *C. r. Assoc. Anat.* **XXII. Réunion.** 1927.

- CRACIUN, E. C.: La culture des tissus en biologie «expérimentale». Paris: Masson & Cie. 1931.
- CUNNINGHAM, R. S.: The changes in the omentum of the rabbit during mild irritations, with special reference to the specificity of mesothelium. Bull. Hopkins Hosp. **33** (1922).
- F. R. SABIN and C. A. DOAN: The differentiation of two distinct types of phagocytic cells in the spleen of the rabbit. Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. **21** (1924).
- — — The development of leucocytes, lymphocytes and monocytes from a specific stemcell in adult tissue. Contrib. to Embryol., 16. Carnegie Inst. Washington Publ. **361** (1925).
- DELORENZI, E.: Caratteri dei trombociti nelle colture „in vitro“. Monit. zool. ital. **44** Suppl. (1933).
- Influenza di un campo magnetico sulla moltiplicazione delle cellule coltivate in vitro. Incremento nella frequenza delle mitosi ed anomalie nel processo mitotico. Boll. Soc. ital. Biol. sper. **10** (1935).
- DEMUTH, F.: Über Knorpelwachstum in vitro. Mschr. Kinderheilk. — **38** (1928).
- Reinkulturen mit zellfreiem Extrakt. Arch. exper. Zellforsch. **10** (1930).
- Über die Züchtung von Schilddrüsenzellen in vitro. Arch. exper. Zellforsch. **13** (1932).
- DOLJANSKI, L.: Dauerzüchtung von Knochen und Periostgewebe. Z. Zellforsch. **8** (1929).
- Cultures pures de tissu hépatique in vitro. C. r. Soc. Biol. Paris **101** (1929).
- Observations sur l'évolution des éléments endothéliaux dans les cultures du foie in vitro. C. r. Soc. Biol. Paris **103** (1930).
- Sur les cultures pures du foie. Arch. exper. Zellforsch. **11** (1931).
- GOLDSCHMIDT et R. HOFFMANN: Étude comparative sur la durée de la période de latence pour la croissance des tissus embryonnaires et adultes explantés in vitro. C. r. Soc. Biol. Paris **126** (1937).
- — — Étude comparative sur la durée de la période de latence sur la croissance de différents tissus et organes d'une poule adulte in vitro. C. r. Soc. Biol. Paris **126** (1937).
- u. FR. ROULET: Zur Frage der Entstehung der bindegewebigen Strukturen. Roux' Arch. **131** (1934).
- — Zur Frage der acellulären Entstehung der Silberfibrille. Protoplasma (Berl.) **23** (1935).
- DREW, A. H.: A comparative study of normal and malignant tissues grown in artificial culture. Brit. J. exper. Path. **3** (1922).
- Growth and differentiation in tissue cultures. Brit. J. exper. Path. **4** (1923).
- Notes on the cultivation of tumors in vitro. Arch. exper. Zellforsch. **5** (1928).
- DUSTIN, A.: A propos des tréphocytes de CARREL et EBELING. C. r. Soc. Biol. Paris **90** (1924).
- EBELING, A.: The permanent life of connective tissue outside of the organism. J. of exper. Med. **17** (1913).
- The effect of the variation in the osmotic tension and of the dilution of culture media on the cell proliferation of connective tissue. J. of exper. Med. **20** (1914).
- A strain of connective tissue seven years old. J. of exper. Med. **30** (1919).
- Fibrin and serum as a culture medium. J. of exper. Med. **33** (1921).
- Measurement of the growth of tissues in vitro. J. of exper. Med. **34** (1921).
- A ten years old strain of fibroblasts. J. of exper. Med. **35** (1922).
- Action des acides aminés sur la croissance des fibroblastes. C. r. Soc. Biol. Paris **90** (1924).

- EBELING, A.: Cultures pures d'épithélium proliférant in vitro depuis dix-huit mois. C. r. Soc. Biol. Paris 90 (1924).
- Cultures pures d'épithélium thyroïdien. C. r. Soc. Biol. Paris 90 (1924).
- Action de l'épithélium thyroïdien en cultures pure sur la croissance des fibroblastes. C. r. Soc. Biol. Paris 90 (1924).
- A pure strain of thyroid cells and its characteristics. J. of exper. Med. 41 (1925).
- and A. FISCHER: Mixed cultures of pure strains of fibroblasts and epithelial cells. J. of exper. Med. 36 (1922).
- EPHRUSSI, B.: Sur la culture de l'endothélium du foie embryonnaire. C. r. Soc. Biol. Paris 103 (1930).
- Sur la transformation de fibroblastes en macrophages. C. r. Soc. Biol. Paris 105 (1930).
- Vitesse de croissance et vitesse de régénération des cultures de tissus in vitro. C. r. Soc. Biol. Paris 106 (1931).
- Action de l'extrait embryonnaire sur la vitesse de régénération des cultures de tissus. C. r. Soc. Biol. Paris 106 (1931).
- Action du plasma et du sérum sanguin sur les macrophages formés in vitro. C. r. Soc. Biol. Paris 106 (1931).
- Sur les facteurs limitant l'accroissement des cultures des tissus in vitro. Signification de l'énergie résiduelle. C. r. Acad. Sci. Paris 192 (1931).
- La culture des tissus. Paris 1932.
- Phénomènes d'intégration dans les cultures des tissus. Paris 1935.
- et A. LITVAC: Quelques résultats de la statistique des mitoses dans les cultures d'épithélium rénal du lapin. Arch. exper. Zellforsch. 16 (1934).
- et G. TEISSIER: Sur la croissance résiduelle des cultures de fibroblastes. C. r. Soc. Biol. Paris 108 (1931).
- ERDMANN, RH.: Cytological observations on the behavior of chicken bone marrow in plasma medium. Amer. J. Anat. 22 (1917).
- Die Bedeutung der Gewebezüchtung für die Biologie. Dtsch. med. Wschr. 1920.
- Einige grundlegende Ergebnisse der Gewebezüchtung aus den Jahren 1914 bis 1920. Erg. Anat. 23 (1921).
- Das Verhalten der Herzklappen der Reptilien und Mammalier in der Gewebekultur. Arch. Entw.mechan. 48 (1921).
- Züchtung von Säugetiergewebe in vitro. Verh. anat. Ges. 33 (1924).
- Gewebezüchtung. Handbuch der normalen und pathologischen Physiologie, Bd. XIV. 1927.
- Über die Wuchsformen verschiedener in vitro gezüchteter Gewebe. Ein Beitrag zum Differenzierungsproblem der Zellen. Verh. dtsh. zool. Ges. 1928.
- Praktikum der Gewebepflege oder Explantation, besonders Gewebezüchtung. Berlin 1930.
- Epithelstudien. Züchtung des Gallenblasenepithels. Arch. exper. Zellforsch. 11 (1931).
- I. EISNER u. H. LASER: Das Verhalten der fetalen, postfetalen und ausgewachsenen Rattenmilz unter verschiedenen Bedingungen in vitro. I. Die Histiocyten. Arch. exper. Zellforsch. 2 (1925).
- ESAKI, S.: Über Kulturen des Hodengewebes der Säugetiere und über die Natur des interstitiellen Hodengewebes und der Zwischenzellen. Z. mikrosk.-anat. Forsch. 15 (1928).
- New studies of nervous tissues cultured in vitro. C. r. Assoc. Anat. XXIV. Réunion. 1929.
- A sure method for the elective staining of neurofibrillae in tissues cultivated „in vitro“. Z. Mikrosk. 46 (1929).

- FAURÉT-FREMIET, E. et H. GARAUŁ: Croissance et différenciation in vitro du mesenchym embryonnaire. C. r. Assoc. Anat. XXVII. Réun. 1932.
- FAZZARI, I.: Culture „in vitro“ di milza embrionale ed adulta. Arch. exper. Zellforsch. 2 (1925).
- FEDEREW, B. G.: Über in vitro-Kulturen des Nervengewebes der Cephalopoden. Biol. Zbl. 53 (1933).
- FELL, H.: The development in vitro of the isolated otocyste of the embryonic fowl. Arch. exper. Zellforsch. 7 (1928).
- Experiments on the differentiation in vitro of cartilage and bone. T. I. Arch. exper. Zellforsch. 7 (1928).
- Osteogenesis in vitro. Arch. exper. Zellforsch. 11 (1931).
- The osteogenetic capacity in vitro of periosteum and endosteum isolated from the limb skeleton of fowl embryos and young chicks. J. of Anat. 66 (1932).
- Chondrogenesis in cultures of endosteum. Proc. roy. Soc. Lond. B 112 (1933).
- and J. A. ANDREWS: A cytological study of cultures in vitro of JENSENS rat sarcoma. Brit. J. exper. Path. 8 (1927).
- and R. ROBISON: The growth, development and phosphatase activity of embryonic avian femora and limb-buds cultivated in vitro. Biochemic. J. 23 (1929).
- and E. N. WILMER: The structure, behaviour and physiological characteristics of vertebrate cells cultivated in vitro. Colloid. Sci. appl. Biol. gen. Discuss. Faraday Soc. 1930.
- FISCHER, A.: Growth of fibroblasts and hydrogen ion concentration of the medium. J. of exper. Med. 34 (1921).
- A three months old strain of epithelium. J. of exper. Med. 36 (1922).
- Cultures of organized tissues. J. of exper. Med. 36 (1922).
- A pure strain of cartilage cells in vitro. J. of exper. Med. 36 (1922).
- Die Gewebekultur und ihre Bedeutung in der experimentellen Medizin und Biologie. Acta med. scand. (Stockh.) 57 (1922).
- Beitrag zur Biologie der bösartigen Geschwulstzellen. Z. Krebsforsch. 21 (1924).
- The interaction of two fragments of pulsating heart tissue. J. of exper. Med. 39 (1924).
- The differentiation and keratinization of epithelium in vitro. J. of exper. Med. 39 (1924).
- Studies on sarcoma cells in vitro. I. Relation to fibroblasts. Arch. exper. Zellforsch. 1 (1925).
- Cytoplasmic growth principles of tissue cells. Arch. Zellforsch. 1 (1925).
- Cellules sarcomateuses et macrophages. C. r. Soc. Biol. Paris 92 (1925).
- Beitrag zur Biologie der Gewebezellen. Eine vergleichend-biologische Studie der normalen und malignen Gewebezellen in vitro. Roux' Arch. 104 (1925).
- The growth of tissue cells from warmblooded animals at lower temperature. Arch. exper. Zellforsch. 2 (1926).
- Umwandlung von Fibroblasten in Makrophagen in vitro. Arch. exper. Zellforsch. 3 (1926).
- Dauerzüchtung reiner Stämme von Carcinomzellen in vitro. Z. Krebsforsch. 25 (1927).
- Technik der Gewebezüchtung. ABDERHALDENS Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden, Bd. 5/I. Wien u. Berlin: Urban & Schwarzenberg 1927.
- Relatives Wachstum von normalen und bösartigen Geweben in vitro. Z. Krebsforsch. 26 (1927).
- Züchtung von Carcinomgewebe in vitro. Arch. exper. Zellforsch. 6 (1928).

- FISCHER, A.: Über Charakter- und Spezifitätskonstanz der Gewebezellen. Pflügers Arch. **223** (1929).
- Gewebezüchtung. München: Müller & Steinicke 1930.
 - Regeneration. Virchows Arch. **279** (1930).
 - Proliferation und Differenzierung der Gewebezellen in vitro. 2. Über das Regenerationsproblem. Untersuchungen an Gewebezellen in vitro. 3. Neue Untersuchungen über die Biologie der Geschwulstzellen in vitro. Protoplasma (Berl.) **14** (1932).
 - Wachstum von hyalinem Knorpel in vitro. Roux' Arch. **125** (1932).
 - Über die Wirkung des Heparins auf das Wachstum von Gewebezellen in vitro. Protoplasma (Berl.) **26** (1936).
 - u. F. DEMUTH: Eiweißabbauprodukte als wachstumsfördernde Substanzen. Arch. exper. Zellforsch. **5** (1928).
 - u. DOLJANSKI: Über das Wachstum von Milzstromazellen in vitro. Roux' Arch. **116** (1929).
 - u. H. LASER: Studien über Sarkomzellen in vitro. V. Über Phagocytose von Zellen des Rous-Sarkom und von Fibroblasten in vitro. Arch. exper. Zellforsch. **3** (1926).
 - u. E. MAYER: Die Entwicklungsphysiologie der Gewebe. Naturwiss. **2** (1931).
 - H. MEYER u. H. LASER: Wechselbeziehungen zwischen normalem und bösartigem Gewebe. Z. Krebsforsch. **29** (1929).
 - u. R. C. PARKER: Proliferation und Differenzierung. Arch. exper. Zellforsch. **8** (1929).
 - — Dauerzüchtung in vitro ohne Wachstumsbeschleunigung. Arch. exper. Zellforsch. **8** (1929).
 - u. TAGE ASTRUP: Die Anwendung von Thrombin in der Gewebezüchtung. Arch. exper. Zellforsch. **23** (1939).
- FOOT, N. C.: Über das Wachstum von Knochenmark in vitro. Experimenteller Beitrag zur Entstehung des Fettgewebes. Beitr. path. Anat. **53** (1912).
- The growth of chicken bone marrow in vitro and its bearing on hematogenesis in adult life. J. of exper. Med. **17** (1913).
- FOWLER, O. M.: The influence of extracts obtained from different regions and different ages of chick embryos on the growth of fibroblasts. J. of exper. Zool. **76** (1937).
- FREIFELD, H.: Erythropoese in Kulturen in vitro von Kaninchennebnieren. Arch. exper. Zellforsch. **4** (1927).
- Wirkung des Anilins auf Gewebekulturen mit histiotypischem Wachstum. Organoides Wachstum von Nervengewebe, Milz, Leber. Arch. exper. Zellforsch. **10** (1930).
- FRIEDHEIM, E. A. H.: Über Knorpel- und Knochenbildung in vitro. Arch. exper. Zellforsch. **9** (1929).
- La formation de la substance interstitielle cartilagineuse et osseuse étudiée en culture de tissu. C. r. Soc. Biol. Paris **100** (1929).
 - Die Züchtung von menschlichem Chorionepithel in vitro. Ein Beitrag zur Lehre vom Chorionepitheliom. Virchows Arch. **272** (1929).
 - Morphologische und funktionelle Untersuchungen an isolierten, in vitro gezüchteten Skelettmuskelfasern. Arch. exper. Zellforsch. **11** (1931).
- GAILLARD, P.: Eine Methode zur Messung der Aktivität der Zellkulturen. Arch. exper. Zellforsch. **11** (1931).
- Gesetzmäßigkeiten beim Wachstum von Gewebekulturen. I. Analyse der Zellteilungsfrequenz. Protoplasma (Berl.) **24** (1935).
 - Gesetzmäßigkeiten beim Wachstum von Gewebekulturen. II. Analyse der Zellbewegung. Protoplasma (Berl.) **25** (1936).

- GAILLARD, P.: Die Glandula hypophysis vom Kaninchen in der Gewebezüchtung, ihre Strukturveränderungen und ihr Einfluß auf das Wachstum von mit diesen zusammengezüchteten Kulturen osteogenetischer Zellen. Protoplasma (Berl.) **28** (1937).
- Die Glandula hypophysis des Kaninchens in vivo und in vitro. Arch. exper. Zellforsch. **22** (1938).
- GAROFOLINI, L.: Rhythmical contractions of single heart muscle cells in tissue culture in vitro. J. of Physiol. **63** (1927).
- GASSUL, R.: Experimentelle Studien über Auspflanzung, Überpflanzung und Regeneration von Explantaten aus erwachsener Froschhaut. Arch. Entw.mechan. **97** (1923).
- GAZA, W. v.: Wundheilung, Transplantation, Regeneration und Parabiose bei höheren Säugern und beim Menschen. Handbuch der normalen und pathologischen Physiologie, Bd. 14, I. 1926.
- GIESCHEN, K.: Über die Histogenese der Zellformen in der Milzkultur von erwachsenen Kaninchen und ihr Verhalten in Nährplasma mit und ohne Trypanblauzusatz. Z. Zellforsch. **15** (1932).
- GLEES, P.: Neuroplasmatische Verbindungen zwischen Zellen des mesencephalen Trigeminuskernes bei *Scyllium canicula*. Koninklijke nederl. Akad. Wetensch. Vol. XLI. 1938.
- Über Zellzusammenhänge im Zentralnervensystem der Selachier. Acta neerl. Morph. norm. et path. **2** (1939).
- GODDRICH, H.: Cell behavior in tissue cultures. Anat. Rec. **23**, 100 (1922).
- GODINA, GIOVANNI: Le cellule del grasso primario studiate col methodo della coltivazione in vitro. Monit. zool. ital. **49** (1938).
- GOLDSCHMIDT, R.: Some experiments on spermatogenesis in vitro. Proc. nat. Acad. Sci. U.S.A. **1** (1915).
- Goss, C. M.: Microdissection of human polymorphonuclear neutrophiles. Arch. exper. Zellforsch. **10** (1930).
- Slow-Motion cinematographs of the Contraction of single cardiac muscle cells. Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. **1931**.
- The formation of cross-striations in cultures of embryonic heart muscle. Arch. exper. Zellforsch. **12** (1932).
- Further observations on the differentiation of cardiac muscle in tissue cultures. Arch. exper. Zellforsch. **14** (1933).
- Double hearts produced experimentally in rat embryos. J. of exper. Zool. **72** (1935).
- The first contractions of the heart in rat embryos. Anat. Rec. **70** (1938).
- GRIGORJEFF, L. M.: Wachstum und Differenzierung des Nervengewebes und seine Beziehungen zu anderen Geweben unter Bedingungen der Kultur in vitro. Anat. Anz. **68** (1929). Mitgeteilt von B. T. LAWRENTJEW.
- Differenzierung des Nervengewebes außerhalb des Organismus. I. Mitteilung. Arch. exper. Zellforsch. **11** (1931).
- Differenzierung des Nervengewebes außerhalb des Organismus. II. Mitteilung. Arch. exper. Zellforsch. **13** (1932).
- GRODZINSKI, Z.: Area vitellina of chick blastoderm in tissue cultures. Contrib. to Embryol. **12** (1930).
- GROSSFELD, H.: Die Zweimedienkultur. Arch. exper. Zellforsch. **11** (1931).
- Production in vitro d'un épithélium aux dépens des fibroblastes du coeur d'embryon de poulet. C. r. Soc. Biol. Paris **108** (1931).
- Experimentelle Erzeugung von mesenchymalem Epithel aus dem Herz-explantat des Hühnerembryo. Arch. exper. Zellforsch. **11** (1931).
- Zur Gewebsdifferenzierung in der Wachstumsperipherie in vitro. Z. Zellforsch. **16** (1932).

- GROSSFELD, H.: Der Einfluß der physikalischen Beschaffenheit des Mediums auf das Wachstum der Zellen. *Arch. exper. Zellforsch.* **16** (1934).
- Zellstreckung und Kohäsionskräfte im gallertigen Wachstumsmedium. *Roux' Arch.* **131** (1934).
- Eine antagonistische Wirkung von Wasserstoff- und Hydroxylionen auf das Protoplasma tierischer Gewebezellen in vitro. *Z. Zellforsch.* **25** (1936).
- Osmotischer Druck, Elektrolyte und Gewebezellen. *Protoplasma (Berl.)* **26** (1936).
- GROSMANN, W.: Über Knochenmark in vitro. *Beitr. path. Anat.* **72** (1924).
- HAAGEN, E.: Die Bedeutung der Ionen im Kulturmedium für die explantierte Zelle. (Beobachtungen an Monocytenkulturen.) *Arch. exper. Zellforsch.* **3** (1926).
- Untersuchungsergebnisse an Monocytenkulturen. *Arch. exper. Zellforsch.* **6** (1928).
- Die Bedeutung der Gewebezüchtung für die experimentelle Virusforschung. *Arch. exper. Zellforsch.* **18** (1936).
- Id. *Arch. exper. Zellforsch.* **22** (1938).
- HAAN, J. DE: Die Züchtung der Gewebe außerhalb des Körpers mittels einer Durchströmungsmethode. *Nederl. Tijdschr. Geneesk.* **68** (1922).
- Die Umwandlung von Wanderzellen in Fibroblasten bei der Gewebezüchtung in vitro. *Arch. exper. Zellforsch.* **3** (1926).
- Le mode de croissance des cellules migratrices dans les cultures in vitro à irrigation permanente. *Bull. Histol. appl.* **4** (1927).
- Einige Verbesserungen in der Methode der Gewebezüchtung mittels Durchströmung. *Arch. exper. Zellforsch.* **7** (1929).
- Weitere Untersuchungen über die Züchtung von Wanderzellen mittels Durchströmung. Nahrungsbedürfnisse, Phagocytose und Vitalfärbung. *Arch. exper. Zellforsch.* **7** (1929).
- Das Auftreten der verschiedenen Zelltypen in Blut und Bindegewebe (Eigenschaften und Entstehungsbedingungen nach Untersuchungen mittels der Durchströmungskultur in vitro). *Arch. exper. Zellforsch.* **7** (1929).
- Die Methode der Durchströmung in der Gewebekultur. Resultate und Aussichten. *Arch. exper. Zellforsch.* **11** (1931).
- The perfusion method for tissue culture in its latest form. *Acta neerl. Morph. norm. et path.* **1** (1937).
- HADJIOLOFF, A.: Étude des cultures des tissus par la méthode lumineuse. *C. r. Soc. Biol. Paris* **128** (1938).
- Comportement des enclaves lipidiques et des cellules des cultures vis-à-vis des liposolvants. *C. r. Soc. Biol. Paris* **128** (1938).
- Remarques techniques et cytologiques sur l'histoculture de la peau de la grenouille adulte. *C. r. Soc. Biol. Paris* **128** (1938).
- HALL, J. and J. FURTH: Cultural studies on the relationship of lymphocytes to monocytes and fibroblasts. *Arch. of Path.* **25** (1938).
- HARRISON, R. G.: Observations on the living developing nerve fiber. *Proc. Soc. exper. Biol. a. Med.* **4** (1907).
- Experiments upon embryonic tissue isolated in clotted lymph. *J. of exper. Zool.* **9** (1910).
- The development of peripheral nerve fibers in altered surroundings. *Roux' Arch.* **30** (1910).
- On the stereotropism of embryonic cells. *Science (N. Y.)* **34** (1911).
- The outgrowth of nerve fiber as a mode of protoplasmic movement. *J. of exper. Zool.* **9** (1911).
- Neuroblast versus sheath cell in the development of peripheral nerves. *J. comp. Neur.* **37** (1924).
- On the status and significance of tissue culture. *Arch. Zellforsch.* **6** (1928).

- HARRISON, R. G.: On the origin and the development of the nervous system studied by the methods of experimental embryologie. Proc. roy. Soc. Lond. B **118** (1935).
- HEIDENHAIN, M.: Herkunft und Bedeutung des Wortes Epithelium und Endothelium. Z. mikrosk.-anat. Forsch. **39** (1936).
- HEIM, K.: Lebens- und Wachstumsbeobachtungen an menschlichen Geweben und Geschwülsten im Explantationsversuch und ihre Bedeutung für klinische Fragen. Arch. Gynäk. **134** (1928).
- HELD, H.: Die Entwicklung des Nervengewebes bei den Wirbeltieren. Leipzig 1909.
- Das Grundnetz der grauen Hirnsubstanz. Mschr. Psychiatr. **1927**.
- Die Lehre von den Neuronen und vom Neurencytium und ihr heutiger Stand. Fortschr. naturwiss. Forsch. **1929**.
- HERWERDEN, M. VAN: Cultures de moelle osseuse ean dehors de l'organisme. Arch. néerl. Physiol. **8** (1923).
- HERZOG, G.: Über die Bedeutung der Gewebezüchtung für die Pathologie. Verh. dtsh. path. Ges. Jena **1931**.
- Über das Wesen der Gewebezüchtung vom morphologischen Standpunkt aus betrachtet. Zbl. Path. **57** (1933).
- u. L. BURKHARDT: Embryonale Skelettmuskelanlage in der Gewebeskultur. 27. Tagg dtsh. path. Ges. Rostock 1934.
- u. G. SCHMINKE: Allgemeines und Spezielles über Gewebezüchtung mit Demonstrationen. Münch. med. Wschr. **1929 I**.
- u. W. SCHOPPER: Über das Verhalten der Blutgefäße in der Kultur. Arch. exper. Zellforsch. **11** (1931).
- HINTZSCHE, E.: Untersuchungen an Stützgeweben. II. Über Knochenbildungsfaktoren, insbesondere über den Anteil der Blutgefäße an der Ossifikation. Z. mikrosk.-anat. Forsch. **14** (1928).
- HIRSCHFELD, H.: Züchtungsversuche mit freien Exsudatzellen. Arch. exper. Zellforsch. **4** (1927).
- K. RAWIDOWICZ: Untersuchungen über die Genese der Blutmakrophagen und verwandter Zellformen und ihr Verhalten in der in vitro-Kultur. I. Mitt. Normales und leukämisches Menschenblut. Z. Krebsforsch. **27** (1928).
- HOGUE, M. J. and G. S. RÉNYI: Giant muscle cells in tissue cultures. Arch. exper. Zellforsch. **23** (1939).
- HOLTFRETER, J.: Über die Aufzucht isolierter Teile des Amphibienkeimes. I. Methode einer Gewebezüchtung in vivo. Roux' Arch. **117** (1929).
- HUZELLA, TH.: Über histologische Gerüstbildung im Vergleich der Organisation der Gewebekultur mit der des Tierkörpers. Erg.-H. Anat. Anz. **67** (1929).
- Der Entstehungsmechanismus und die organisatorische Bedeutung des Gitterfasersystems. Roux' Arch. **116** (1929).
- Morphogenese der Kapillaren. III. internat. Anat.-Kongr. Amsterdam 1930. Anat. Anz. **71**, Erg.-H. (1931).
- Funktionelle Struktursysteme in niederen und höheren Organismen. Anat. Ges. Breslau 1931.
- Beziehungen zwischen Blut und Bindegewebe in der Milzkultur. Arch. exper. Zellforsch. **11** (1931).
- Aktive Elektrizität des Gitterfasersystems. Anat. Anz. **72** (1931).
- Experimentelle Untersuchungen über Beziehungen der Nervenlemente. Anat. Anz. **85**, Erg.-H. (1938).
- INGEBRIGTSEN, R.: The influence of heat on different sera as culture media for growing tissues. J. of exper. Med. **15** (1912).

- INGEBRIGTSEN, R.: Regeneration of axis cylinders „in vitro“. J. of exper. Med. **17**; **18** (1913).
- Studies of the degeneration and regeneration of the axis cylinders in vitro. J. of exper. Med. **17** (1913).
- INGVAR, S.: Reaction of cells to the galvanic current in tissue cultures. Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. **17** (1920).
- JABLONSKI, W.: Sopravvivenza e mitosi di cellule epitheliali libere in vitro. R. Accad. Lincei **6** (1937).
- Über Änderungen der Zellform und Zellstruktur unter dem Einfluß des Mediums in Reinkulturen von Epithel in vitro. Untersuchungen am Iris- und Linsenepithel. Extr. Arch. Biol. **49** (1938).
- JUHÁSZ-SCHÄFFER, A.: Teerwirkung auf Explantate in vitro. Arch. exper. Zellforsch. **3** (1926).
- KAPPEL, O.: Sur la culture in vitro de tissu hépatique et pancréatique. C. r. Soc. Biol. Paris **95** (1926).
- Über Reinkultur von Epithel in vitro. Arch. exper. Zellforsch. **4** (1927).
- Einige Untersuchungen über das Verhalten des Epithels in vitro. Arch. exper. Zellforsch. **8** (1929).
- KATZENSTEIN, W.: Studien über die Allantois und ihre Kultur in vitro. Arch. exper. Zellforsch. **1** (1925).
- u. E. KNAKE: Die Anregung des Epithelwachstums bei gleichzeitiger Störung des Bindegewebswachstums durch oberflächenaktive Stoffe in Gewebekulturen. Z. Krebsforsch. **33** (1931).
- KIRBY, D. B.: Die Züchtung von Geweben des Auges in vitro. Graefes Arch. **119** (1927).
- The cultivation of lens epithelium in vitro. J. of exper. Med. **45** (1927).
- KNAKE, E.: Die Histio- und Leukocytenentstehung bei Tuschewirkung auf das lockere Bindegewebe des Kaninchens. Z. Zellforsch. **5** (1927).
- Beitrag zur Fibrillenbildung. Arch. exper. Zellforsch. **22** (1938).
- KRONTOWSKI, A.: Explantation und deren Ergebnisse für die normale und pathologische Physiologie. Erg. Physiol. **26** (1928).
- LAMBERT, R. A.: Variations in the characters of growth in tissue cultures. Anat. Rec. **6** (1912).
- The life of tissues outside the organism from the pathological standpoint (with discussion by L. LOEB and W. H. LEWIS). Trans. Congr. amer. Phys. a. Surg. **9** (1913).
- The effect of dilution of plasmamedium on the growth and fat accumulation of cells in tissue cultures. J. of exper. Med. **19** (1914).
- On the question of the transformation of fibrin into fibrous tissue in tissue culture preparations. Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. **14** (1916).
- and F. M. HANES: On the phagocytic inclusion of carmine particles by sarcoma cells growing in vitro with consequent staining of the cell granules. Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. **8** (1911).
- Beobachtungen an Gewebekulturen in vitro. Virchows Arch. **211** (1913).
- LANG, F.: Über Gewebekulturen der Lunge. Arch. exper. Zellforsch. **2** (1925).
- LASER, H.: Über Zellverbindungen in vitro als Vorbedingung für Zellwachstum. Arch. exper. Zellforsch. **1** (1925).
- LASNITZKI, J.: The action of heated embryo extract upon the growth of fibroblast cultures. Skand. Arch. Physiol. (Berl. u. Lpz.) **76** (1937).
- LAZARENKO, T.: Ein Beitrag zur Morphologie des Wachstums von embryonalem Nervengewebe in vitro. Arch. exper. Zellforsch. **11** (1931).
- u. M. BENENSON: Zur Frage über den Einfluß der ultravioletten Strahlen auf das Wachstum der Nervenfasern in vitro. Arch. exper. Zellforsch. **13** (1932).

- LENGYEL, J.: Die elastische Dehnbarkeit der argyrophilen Fasern. *Anat. Anz.* 74 (1932).
- LEVI, G.: La costituzione del protoplasma studiata su cellule viventi coltivate in vitro. *Arch. di Fisiol.* 14 (1916).
- Differenziazion „in vitro“ di fibre da cellule mesenchimali e loro accrescimento per movimento ameboide. *Monit. zool. ital.* 27 (1916).
- Connessioni e struttura degli elementi nervosi sviluppati fuori dell'organismo. *Mem. Accad. Lincei* 12, IV (1917).
- Nuovi studi su cellule coltivate „in vitro“. *Attività biolog. intima struttura, caratteri morfologici specifici.* *Arch. ital. Anat.* 16 (1919).
- Vita autonoma di parti dell'organismo. *Attualità scientifiche. Seria medica.* Zanichelli 1922.
- Comparsa tumultuaria di divisioni mitotiche ed arresto delle medesime in culture di tessuti. *R. Accad. Lincei* 31 (1922).
- La reale esistenza delle miofibrille nel cuore dell'embrione di pollo. *Osservazioni sul cuore vivente e su elementi coltivati „in vitro“.* *R. Accad. Lincei* 31 (1922).
- Osservazioni sulla struttura della cellula epatica vivente coltivata in vitro. *Giorn. Accad. Med. Torino* 85 (1922).
- Struttura e proprietà degli endotheli vascolari. *Richerche su culture in vitro.* *Giorn. Biol. e Med. sper.* 1 (1923).
- Differenze nei caratteri dei fibroblasti nelle culture „in vitro“ in relazione al grado di differenziazione del tessuto espantato. *Arch. ital. Anat.* 20 (1923).
- I fattori che regolano la migrazione e la moltiplicazione delle cellule coltivate in vitro. *Arch. di Fisiol.* 21 (1923).
- Processi regressivi reversibili nelle cellule coltivate in vitro. *Dei limiti di alterazione cellulare compatibili colla vita.* *R. Accad. Lincei* 32 (1923).
- Esiste una continuità protoplasmatica fra individualità cellulari distinte nelle culture in vitro? *R. Accad. Lincei* 32 (1923).
- Caractères morphologiques spécifiques et propriétés biologiques de différents tissus dans les cultures „in vitro“. *C. r. Assoc. Anat. XIX. Réunion.* 1924.
- Conservazione e perdita dell'indipendenza delle cellule dei tessuti. *Arch. exper. Zellforsch.* 1 (1925).
- Richerche sperimentali sovra elementi nervosi sviluppati „in vitro“. *Arch. exper. Zellforsch.* 2 (1925).
- *Trattato di Istologia.* Un. Tip. Ed. Tor. 1927.
- *Gewebezüchtung.* In *Methoden der wissenschaftlichen Biologie.* Berlin 1928.
- Sulla differenziazione delle cellule nervose. *R. Accad. Lincei* 9 (1929).
- Il contributo portato dal metodo della coltivazione „in vitro“ alla conoscenza della struttura del tessuto nervoso. *Monit. zool. ital.* 40 (1930).
- Explantation, besonders die Struktur und die biologischen Eigenschaften der in vitro gezüchteten Zellen und Gewebe. *Erg. Anat.* 31 (1934).
- Influenza della sineresi del coagulo di plasma sui caratteri della colture di tessuto nervoso. (A proposito di una pubblicazione di K. BAUER.) *Monit. zool. ital.* 49 (1938).
- e L. BUCCIANTE: Sulla natura delle colorazioni vitali studiata sulle cellule coltivate in vitro. *Arch. exper. Zellforsch.* 7 (1929).
- e E. DELORENZI: Trasformazioni degli elementi dei gangli spinali e simpatici coltivati in vitro. *Arch. ital. Anat.* 33 (1934).
- et H. MEYER: Nouvelles recherches expérimentales sur le tissu nerveux cultivé „in vitro“. *Recherches sur les ganglions spinaux.* *Extr. C. r. Assoc. Anat.* 1937.

- LEVI, G.: Nuove ricerche sulle proprietà morfologiche e biologiche del protoplasma del neurone. Reazione a lesioni circoscritte del citoplasma. Riv. Pat. sper., N. s. 8 (1937).
- Die Struktur der lebenden Neurone. Die Frage der Präexistenz der Neurofibrillen. Anat. Anz. 83 (1937).
- Il destino dei neuroni sensitivi coltivati in vitro. Monit. zool. ital. Suppl. 48 (1938).
- Diversità nei rapporti di interdipendenza fra fibre nervose cresciute „in vitro“ determinate da fattori estrinseci. Monit. zool. ital. 48 (1938).
- e O. M. OLIVO: Le proprietà strutturali delle cellule e dei tessuti coltivati in vitro. Arch. exper. Zellforsch. 6 (1928).
- LEVI-MONTALCINI, R. ed E. SACÉRDOTE: I caratteri e le modalità di sviluppo delle fibre collagene e reticolari nelle colture in vitro. Arch. ital. Anat. 40 (1938).
- LEWIS, M. R.: The duration of the various phases of mitosis in the mesenchyme cells of tissue cultures. Anat. Rec. 13 (1917).
- Development of connective tissue fibers in tissue cultures of chick embryos. Contrib. to Embryol., Carnegie Inst. Washington 1917.
- The development of cross striations in the heart muscle of the chick embryo. Bull. Hopkins Hosp. 30 (1919).
- Muscular contraction in tissue cultures. Contrib. to Embryol., Carnegie Inst. Washington 1920.
- The importance of dextrose in the medium of tissue cultures. J. of exper. Med. 35 (1922).
- Reversible gelation in living cells. Bull. Hopkins Hosp. 34 (1923).
- A study of the mononuclears of frog's blood in vitro. Arch. Zellforsch. 2 (1925).
- The development of the cross-striated myofibril in the heart muscle of the chick embryo. Anat. Rec. 16 (1929).
- and L. D. FELTON: The hydrogen concentration of cultures of connective tissue from chick embryos. Science (N.Y.) 54 (1921).
- The hydrogen-ion concentration of tissue growth in vitro. Bull. Hopkins Hosp. 33 (1922).
- and W. H. LEWIS: The cultivation of tissues from chick embryos in solutions of NaCl, CaCl₂, KCl and NaHCO₃. Anat. Rec. 5 (1911).
- The growth of embryonic chick tissues in artificial media, agar and bouillon. Bull. Hopkins Hosp. 22 (1911).
- The cultivation of sympathetic nerves from the intestine of chick embryos in saline solutions. Anat. Rec. 6 (1912).
- Membrane formations from tissues transplanted into artificial media. Anat. Rec. 6 (1912).
- The cultivation of chick-tissues in media of known chemical constitution. Anat. Rec. 6 (1912).
- Behaviour of cross striated muscle in tissue cultures. Amer. J. Anat. 22 (1917).
- The contraction of smooth muscle cells in tissue cultures. Amer. J. Physiol. 44 (1917).
- and E. LICHTENSTEIN: Breaking down the resistance of albino mice to the transplantation of tumors induced by 1,2,5,6-dibenzanthracene in a different strain of albino mice. Amer. J. Canc. 27 (1936).
- LEWIS, W. H.: The characteristics of various types of cells found in tissue cultures from chick embryos. Anat. Rec. 21, 71 (1921).
- Smooth muscle and endothelium in tissue cultures. Anat. Rec. 21, 72 (1921).

- LEWIS, W. H.: Is mesenchym or smooth muscle a syncytium or an adherent reticulum? *Anat. Rec.* **23**, 26 (1922).
- Is mesenchym a syncytium? *Anat. Rec.* **23** (1922).
 - The adhesive quality of cells. *Anat. Rec.* **23** (1922).
 - Endothelium in tissue cultures. *Amer. J. Anat.* **30** (1922).
 - The transformation of mesenchyme into mesothelium in tissue cultures. *Anat. Rec.* **25**, 111 (1923).
 - Cultivation of heart muscle from chick embryos (4 to 11 days old) in LOCKE-bouillon-dextrose medium. *Anat. Rec.* **25**, 111 (1923).
 - Amniotic ectoderm in tissue cultures. *Anat. Rec.* **26** (1923).
 - Mesenchyme and mesothelium. *J. of exper. Med.* **38** (1923).
 - The influence of temperature on the rhythm of the isolated heart of the young chick embryo. *Bull. Hopkins Hosp.* **35** (1924).
 - The engulfement of living blood cells by others of the same type. *Anat. Rec.* **31** (1925).
 - The transformation of mononuclear blood cells into macrophages, epitheloid cells and giant cells. The Harvey lectures of the Harvey Soc. of New York 1926.
 - Cultivation of embryonic heart muscle. *Contrib. to Embryol. Carnegie Inst. Washington* **18** (1926).
 - Migration of neurophilic leucocytes. *Arch. exper. Zellforsch.* **4** (1927).
 - The formation of giant cells in tissue cultures and their similiarity to those in tuberculous lesions. *Amer. Rev. Tbc.* **15** (1927).
 - Sarcoma cells. *Arch. exper. Zellforsch.* **5** (1928).
 - The transformation of mononuclear blood cells into macrophages, epitheloid cells and giant cells. *Arch. exper. Zellforsch.* **6** (1928).
 - The effect of various solutions and salts on the pulsation rate of isolated hearts from young chick embryos. *Contrib. to Embryol. Carnegie Inst. Washington* **1929**.
 - Macrophages and other cells of the deep fascia of the thigh of the rat. *Contrib. to Embryol., Carnegie Inst. Washington* **1929**.
 - Pinocytosis. *Bull. Hopkins Hosp.* **49** (1931).
 - Locomotion of lymphocytes. *Bull. Hopkins Hosp.* **49** (1931).
 - The outgrowth of endothelium and capillaries in tissue cultures. *Bull. Hosp. Hopkins* **49** (1931).
 - On the locomotion of the polymorphonuclear neutrophiles of the rat in autoplasm cultures. *Bull. Hopkins Hosp.* **55** (1934).
 - Rat malignant cells in roller tube cultures and some results. *Contrib. to Embryol.* **25** (1935).
 - The role of a superficial plasmagel layer in changes of form, locomotion and division of cells in tissue cultures. *Arch. Zellforsch.* **23** (1939).
 - Cultural and cytological characteristics of normal and of malignant cells in vitro. *Arch. exper. Zellforsch.* **23** (1939).
 - Controlled mitosis and the superficial plasmagel layer. *Amer. J. Canc.* **35** (1939).
 - Changes of viscosity and cell activity. *Science (N.Y.)* **89** (1939).
 - and McCoy: Survival of cells after death of the organism. *Anat. Rec.* **23**, 27 (1922).
 - The survival of cells after death of the organism. *Bull. Hopkins Hosp.* **33** (1922).
 - and G. O. GEY: Clasmocytes and tumor cells in cultures of mouse sarcoma. *Bull. Hopkins Hosp.* **34** (1923).
 - and M. R. LEWIS: Behaviour of cells in tissue cultures. *Gen. Cytol.* ed by Cowdry (Chicago) **1925**.

- LEWIS, W. H. and J. R. MITCHELL: Changes in the neutrophiles and monocytes of the buffy coat of human blood serum. *Anat. Rec.* **53** (1932).
- and L. WEBSTER: Migration of lymphocytes in plasma cultures of human lymph nodes. *J. of exper. Med.* **33** (1921).
- — Giant cells in cultures from human lymph nodes. *J. of exper. Med.* **33** (1921).
- — Wandering cells, endothelial cells and fibroblasts in cultures from human lymph nodes. *J. of exper. Med.* **34** (1921).
- LITVAC, A.: Propriétés et structure des substances intercellulaires formées en culture in vitro. *Archives Anat. microsc.* **33** (1937).
- LOEB, L.: Growth of tissues in culture media and its significance for the analysis of growth phenomena. *Anat. Rec.* **6** (1912).
- LOEWENTHAL, H.: Über Kulturen von Milchflecken des Rattenetzes in vitro. *Arch. exper. Zellforsch.* **3** (1926).
- LOMBART, A.: Histophysiologische Studien über Gewebekulturen der Milz. *Bol. Soc. españ. Hist. nat.* **31** (1931).
- LUBARSCH, O. u. E. WOLF: Der heutige Stand der Gewebezüchtung im besonderen in ihrer Bedeutung für die Pathologie. *Jkurse ärztl. Fortbildg* **16** (1925).
- LOSEE, J. R. and A. EBELING: The cultivation of human tissue in vitro. *J. of exper. Med.* **19** (1914).
- — The cultivation of human sarcomatous tissue in vitro. *J. of exper. Med.* **20** (1914).
- — The cultivation of human tissue in vitro. *Bull. Lying-in-Hosp.* **10** (1915).
- LUDFORD, R. J.: The differential reaction to trypanblue of normal and malignant cells in vitro. *Thenth sci. Rep. imp. Canc. Res. fund.* 1932.
- Differences in growth of transplantable tumours in plasma and serum culture media. *Proc. roy. Soc. Lond. B* **112** (1932).
- The behaviour of the malignant and non-malignant cells of transplantable tumours in tissue cultures. *Arch. exper. Zellforsch.* **14** (1933).
- Factors influencing the growths of normal and malignant cells in fluid culture medium. *Proc. roy. Soc. Lond.* **115** (1934).
- The cytological action of methylene blue. *Arch. exper. Zellforsch.* **17** (1935).
- Changes in the physical state of protoplasm during cellular degeneration in vitro. *Protoplasma (Berl.)* **23** (1935).
- The comparative reactions of normal and malignant cells in vitro to physical and chemical agents. *Arch. exper. Zellforsch.* **22** (1938).
- LUDWIG, F. W.: Beobachtungen am explantierten Bindegewebe mit besonderer Berücksichtigung der Fibrillenbildung. *Arch. exper. Zellforsch.* **9** (1929).
- MCJUNKIN, F. A.: Supravital staining of cultures of lymph node and liver endothelia. *Arch. exper. Zellforsch.* **3** (1926).
- Rosette and granulo-hyaline phagocytes in tissue cultures stained supravitaly with neutral red. *Proc. Soc. exper. Biol. a. Med.* **24** (1926).
- MCKINNEY, R.: Studies on fibers in tissue culture. III. The development of reticulum into collagenous fibers in cultures of adulte rabbit lymph nodes. *Arch. exper. Zellforsch.* **9** (1929).
- MCWHORTER, J. E. and A. O. WHIPPLE: The development of the blastoderm of the chick in vitro. *Anat. Rec.* **6** (1912).
- MARCHAND, F.: Die örtlichen reaktiven Vorgänge. *Handbuch der allgemeinen Pathologie*, Bd. IV, 1. Abt. 1924.
- MARINESCO, G. et I. MINEA: Sur le rejuvenissement des cultures des ganglions spinaux. *C. r. Soc. Biol. Paris* **74** (1913).

- MARINESCO, G. et I. MINEA: Sur la production expérimentale des lésions neurofibrillaires semblables à la lésion d'ALZHEIMER dans les cultures du tissu nerveux in vitro. C. r. Soc. Biol. Paris **77** (1914).
- MARTINOVITCH, P. N.: Migration and survival in vitro of nerve cells cultivated in the cerebrospinal fluid of the embryo and the young animal. Arch. exper. Zellforsch. **10** (1930).
- Survival in vitro of explants of the cerebral cortex of the cat cultivated in the cerebrospinal fluid of the young animal. Arch. exper. Zellforsch. **12** (1932).
- Development in vitro of the mammalian gonad. Nature (Lond.) **139** (1937).
- The development in vitro of the mammalian gonad. Ovary and oogenesis. Proc. roy. Soc. Lond. B **1938**, Nr 839.
- Development in vitro of the mammalian gonad. Arch. exper. Zellforsch. **22** (1938).
- MCMASTER, PHILIP and ROBERT J. PARSONS: Physiological conditions existing in connective tissue. I. The method of interstitial spread of vital dyes. J. of exper. Med. **69** (1939).
- Id. II. The state of the fluid in the intradermal tissue. J. of exper. Med. **69** (1939).
- MATSUI, J.: Über die in vitro-Kultur des Endothels der Membrana Descemetii. Arch. exper. Zellforsch. **8** (1929).
- MATSUMOTO, S.: Contribution to the study of epithelial movement. The corneal epithelium of the frog in tissue culture. J. of exper. Zool. **26** (1918).
- and H. ISHIMARU: A contribution to the study of epithelial movements. The corneal epithelium of warm-blooded animals in tissue culture. Acta Scholae med. Kioto **5** (1925).
- MAUER, G.: Untersuchungen über die Einwirkung cancerogener Kohlenwasserstoffe auf Gewebekulturen. Arch. exper. Zellforsch. **21** (1933).
- MAYER, E.: Die Grundlagen der Wachstumsmessung an Gewebekulturen. Arch. exper. Zellforsch. **10** (1930).
- Formbildung und Wachstum von gezüchteten Zellverbänden („Reinkulturen“). Beiträge zur allgemeinen Entwicklungsphysiologie. Roux' Arch. **130** (1933).
- Le rôle du plasma sanguin dans les cultures des tissus. C. r. Soc. Biol. Paris **119** (1935).
- Experiments on the limit of growth in tissue cultures. Skand. Arch. Physiol. (Berl. u. Lpz.) **72** (1935).
- The mode of action of lipoides on tissue cells in vitro. Skand. Arch. Physiol. (Berl. u. Lpz.) **75** (1936).
- Die Bedeutung der Gewebekulturen für die theoretische Biologie. Scientia (Milano) **61** (1937).
- u. A. FISCHER: The effect of amino acids on fibroblasts in vitro. Skand. Arch. Physiol. (Berl. u. Lpz.) **75** (1937).
- MEYER, H.: Züchtung der Retina des Huhnes in vitro. Z. mikrosk.-anat. Forsch. **39** (1936).
- Kulturen von Ciliar- und Irismuskeln bei Hühnerembryonen. Z. mikrosk.-anat. Forsch. **39** (1936).
- Langdauernde Züchtung von Nervenzellen in vitro. Riv. Biol. **22** (1937).
- Langdauernde Züchtung von Nervengewebe in vitro. IV. Mitt. Über den Grad der Größenzunahme der Ganglienzellen. Bio-Morphosis **1** (1938).
- u. W. JABLONSKI: Cultivation of nerve cells in vitro over a long period. Second note. J. of Anat. **72** (1937).
- The occurrence of wandering cells in cultures of nervous tissue *in vitro* and the changes in their form in various media. J. of Anat. **73** (1938).

- MAXIMOW, A.: Der Lymphocyt als gemeinsame Stammzelle der verschiedenen Blutelemente. *Fol. haemat. (Lpz.)* **8** (1909).
- The cultivation of connective tissue of adult mammals in vitro. *Arch. russ. Anat. Hist. Embryol.* **1** (1916).
- Untersuchungen über Blut und Bindegewebe. VII. Über in vitro-Kulturen von lymphoidem Gewebe des erwachsenen Säugetierorganismus. *Arch. mikrosk. Anat.* **96** (1922).
- Untersuchungen über Blut und Bindegewebe. IX. Die cytologischen Eigenschaften der Fibroblasten, Retikulumzellen und Lymphocyten des lymphoiden Gewebes außerhalb des Organismus, ihre genetischen Wechselbeziehungen und prospektiven Entwicklungspotenzen. *Arch. mikrosk. Anat.* **97** (1923).
- Relation of blood cells to connective tissue and endothelium. *Physic. Rev.* **4** (1924).
- Tissue cultures of young mammalian embryos. *Contrib. to Embryol.* **80** (1925).
- Über undifferenzierte Blutzellen und mesenchymale Keimlager im erwachsenen Organismus. *Klin. Wschr.* **1926**.
- Bindegewebe und blutbildende Gewebe. *Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen*, Bd. 2/II. 1927.
- Über das Mesothel (Deckzellen der serösen Häute) und die Zellen der serösen Exsudate. Untersuchungen an entzündlichem Gewebe und an Gewebekulturen. *Arch. exper. Zellforsch.* **4** (1927).
- Cultures of blood leucocytes. From lymphocyte and monocyte to connective tissue. *Arch. exper. Zellforsch.* **5** (1928).
- Über die Entwicklung argyrophiler und kollagener Fasern in Kulturen von erwachsenem Säugetiergewebe. *Z. mikrosk.-anat. Forsch.* **17** (1929).
- MENDELEEFF, P.: Expériences sur la croissance des tissus embryonnaires in vitro. *Arch. internat. Méd. expér.* **1** (1925).
- MICHALOW, V. P.: Growth and transformation in vitro of the covering cells of the vascular plexus of brain. *C. r. Acad. Sci. U.R.S.S.* **18** (1938).
- MIHÁLIK, P. v: Untersuchungen an Gewebekulturen in chromatisch polarisiertem Lichte. *Z. Zellforsch.* **13** (1931).
- Macrophages in cultures of chick embryo brain. *Anat. Rec.* **54** (1932).
- The effect of the media and of p_{H} on embryonic brain cultures. *Anat. Rec.* **54** (1932).
- Über die Nervengewebekulturen, mit besonderer Berücksichtigung der Neuronenlehre und der Mikrogliafrage. *Arch. exper. Zellforsch.* **17** (1934).
- MINEA, I.: Culture in vitro de cellules nerveuses isolées. *C. r. Soc. Biol. Paris* **90** (1924).
- Rapports des fibroblastes et des fibres nerveuses néoformées dans les cultures in vitro des ganglions spinaux. *C. r. Soc. Biol. Paris* **103** (1930).
- MISZURSKI, B.: Researches on the keratinisation of the epithelium in tissue-cultures. *Arch. Zellforsch.* **20** (1937).
- MITSUDA, T.: Untersuchungen über Transplantation und Explantation von Lebergewebe unter besonderer Berücksichtigung der Pigmentfrage. *Virchows Arch.* **248** (1924).
- MÖLLENDORFF, M. v.: Beobachtungen bei der Dauerzüchtung von Bindegewebe erwachsener Kaninchen. *Z. Zellforsch.* **12** (1931).
- Über Histiocytenbildung aus Fibrocytenreinkulturen des erwachsenen Kaninchens nach leichten chronischen Reizungen. *Z. Zellforsch.* **12** (1931).
- Phagocytoseversuche mit Fibrocyten. *Z. Zellforsch.* **15** (1932).
- MÖLLENDORFF, W. v.: Die Entstehung der Histiocyten in Kulturen erwachsenen Bindegewebes. *Arch. exper. Zellforsch.* **11** (1931).

- NAGEOTTE, J.: Considérations sur la théorie du neurone, à propos de travaux récents. *Anat. Anz.* **87** (1938).
- et L. GUYON: Sur les nerfs de la cornée et, en particulier, sur ceux qui viennent de la troisième paire. *C. r. Assoc. Anat.* **XXIII**. Réun. 1938.
- NICHOLAS, J. S.: The development of rat embryos in a circulating medium. *Anat. Rec.* **70** (1938).
- and D. RUDNICK: The development of rat embryos in tissue culture. *Proc. nat. Acad. Sci. U.S.A.* **20** (1934).
- NISHIBE, M.: On the cultivation of kidney tissue from the adult toad. *Arch. exper. Zellforsch.* **7** (1929).
- A pure strain of endocardial cells. *Arch. exper. Zellforsch.* **8** (1929).
- Growth of endocardial cells from the chick embryo heart in vitro. *Arch. exper. Zellforsch.* **7** (1928/29).
- ODIETTE, D.: Observations sur la genèse des fibres élastiques dans les cultures „in vitro“. *C. r. Assoc. Anat.* **XXVII**. Réun. 1932.
- Influence de quelques acides aminés sur la genèse des éléments élastiques dans les cultures de tissus in vitro. *C. r. Soc. Biol. Paris* **110** (1932).
- et R. TRUHAUT: Recherches sur la nature de l'action de substances mitogénétiques dans les cultures de tissus in vitro. *Bull. Histol. appl.* **14** (1937).
- OKKELS, H.: Histochemische und mikrurgische Studien an Gewebekulturen von Lebergewebe. Über einige morphologische Erscheinungen bei Speicherung von Eisen in den Gewebezellen. *Arch. exper. Zellforsch.* **8** (1929).
- The culture of whole organs. I. The effects of perfusion on the thyroid epithelium. *J. of exper. Med.* **66** (1937).
- The culture of whole organs. The problem of antihormones studies on isolated living thyroid glands. *J. of exper. Med.* **66** (1937).
- OLIVO, O. M.: L'esistenza di miofibrille nel cuore di embrioni di pollo vivente. *Giorn. Accad. Med. Torino* **86** (1923).
- Sull'inizio della capacità funzionale dei tessuti contrattili nell'embrione di pollo, in relazione alla loro differenziazione funzionale e morfologica. I. Differenziazione funzionale e morfologica dell'abbozzo cardiaco. *R. Accad. Lincei* **33** (1924).
- Sull'inizio della funzione contrattile del cuore e dei miotomi dell'embrione di pollo in rapporto alla loro differenziazione morfologica e funzionale. *Arch. exper. Zellforsch.* **1** (1925).
- Sull'istituirsì della sincronicità tra le pulsazioni, di frammenti di cuore embrionale di pollo e di colombo, coltivati insieme in vitro. *Arch. exper. Zellforsch.* **2** (1925).
- Sulla migrazione di neuroblasti coltivati in vitro. *Boll. Soc. ital. Biol. sper.* **1** (1926).
- Comportamento del tessuto nervoso embrionale di pollo coltivato per più settimane in vitro. *Boll. Soc. ital. Biol. sper.* **1** (1926).
- Migrazione di elementi nervosi coltivati in vitro. *Arch. exper. Zellforsch.* **4** (1927).
- Differenziazione e sdifferenziazione del tessuto nervoso embrionale di pollo coltivato per più settimane in vitro. *Arch. exper. Zellforsch.* **5** (1927).
- Über die frühzeitige Determinierung der Herzanlage beim Hühnerembryo und deren histologische und physiologische Differenzierung in vitro. *Anat. Anz.* **66**, Erg.-H. (1928).
- Précocité détermination de l'ébauche du coeur dans l'embryon de poulet et sa différenciation histologique et physiologique in vitro. *C. r. Assoc. Anat.* **XXIII**. Réun. 1928.

- OLIVO, O. M.: Sulle modificazioni strutturali e funzionali del miocardio di pollo coltivato in vitro. *Arch. exper. Zellforsch.* **8** (1929).
- Das qualitative und quantitative Wachstum der Gewebe in vitro und dessen Faktoren. *Arch. exper. Zellforsch.* **11** (1931).
- Differenziazione di fibre collagene nelle colture in vitro in mezzo liquido. *Boll. Soc. ital. Biol. sper.* **8** (1933).
- Struttura e attività biologiche delle cellule coltivate in vitro. *Boll. Soc. ital. Biol. sper.* **8** (1933).
- e G. GOMIRATO: Coefficiente mitotico di espianti coltivati in vitro in rapporto a differenti terreni nutritivi. *Boll. Soc. ital. Biol. sper.* **6** (1931).
- e E. PORTA: Sulla velocità di accrescimento in vitro di elementi mesenchimali isolati da organi differenti. *Boll. Soc. ital. Biol. sper.* **5** (1930).
- und E. SLAVICH: Ricerche sulla velocità dell'accrescimento delle cellule e degli organi. I. Accrescimento ponderale, coefficiente mitotico dell'accrescimento e durata della mitosi e dell'intercinesi nel cuore embrionale di pollo. *Roux' Arch.* **121** (1930).
- OPPEL, A.: Kausal-morphologische Zellenstudien. IV. Die Explantation von Säugetiergeweben — ein der Regulation von seiten des Organismus nicht unterworfenen Gestaltungsgeschehen. *Roux' Arch.* **34** (1912).
- Über aktive Epithelbewegung. *Anat. Anz.* **41** (1912).
- Gewebekulturen und Gewebepflege im Explantat. *VIEWEGSche Sammlung Tagesfragen auf den Gebieten der Naturwissenschaft und Technik*, Bd. 12. 1914.
- PARKER, R. C.: Physiologische Eigenschaften mesenchymaler Zellen in vitro. *Arch. exper. Zellforsch.* **8** (1929).
- Structural and functional variations of fibroblasts in pure cultures. *Science (N.Y.)* **73** (1931).
- The stability of functionally distinct races of fibroblasts. *Science (N.Y.)* **11** (1932).
- The races that constitute the group of common fibroblasts. The effect of blood plasma. *J. of exper. Med.* **55** (1932).
- The races that constitute the group of common fibroblasts. III. Differences determined by origin of explantat and age of donor. *J. of exper. Med.* **58** (1933).
- The cultivation of tissues for prolonged periods in single flasks. *J. of exper. Med.* **64** (1936).
- The cultivation of large quantities of adult tissue in fluid media. *Science (N.Y.)* **83** (1936).
- Studies on the production of antibodies in vitro. *Science (N.Y.)* **85** (1937).
- PETER, K.: Zellteilung und Zelltätigkeit. *Z. Anat.* **72** (1924).
- PÉTERFI, T.: Die Wirkung des Anstechens auf das Protoplasma lebender Zellen. II. Anstichversuche an in vitro gezüchteten Vogelmonocyten. *Arch. exper. Zellforsch.* **4** (1927).
- Das leitende Element. *Handbuch der normalen und pathologischen Physiologie*, Bd. 9. 1927.
- Die Mikrurgie der Gewebekulturen. *Arch. exper. Zellforsch.* **4** (1927).
- Schlußfolgerungen aus den elektrischen Reizversuchen an gezüchteten Gewebezellen. *Biol. Zbl.* **55** (1935).
- u. C. KAPEL: Die Wirkung des Anstechens auf das Protoplasma der in vitro gezüchteten Gewebezellen. III. Anstichversuche an den Nervenzellen. *Arch. exper. Zellforsch.* **5** (1928).
- — Die Pigmentzellen. *Arch. exper. Zellforsch.* **5** (1928).
- u. ST. WILLIAMS: Elektrische Reizversuche an gezüchteten Gewebezellen. II. Versuche an verschiedenen Gewebekulturen. *Arch. exper. Zellforsch.* **16** (1934).

- PÉTERFI, T. u. ST. WILLIAMS: Elektrische Reizversuche an gezüchteten Gewebezellen. III. Versuche an Mischkulturen. Arch. exper. Zellforsch. **16** (1934).
- PINKUS, H.: Pancreas in der Gewebezüchtung. Arch. exper. Zellforsch. **8** (1929).
- Untersuchungen über das Verhalten von Hühnerpancreas in der Gewebezüchtung. Arch. exper. Zellforsch. **10** (1930).
- Über Gewebekulturen menschlicher Epidermis. Arch. f. Dermat. **165** (1932).
- PIRES-SOARES, J.: La fibrinolyse dans les cultures der tissus en vitro. 12. internat. Kongr. Zool. Lissabon, Vol. I. 1936.
- POLEFF, L.: Explantationsversuche mit Augengeweben. Ber. dtsch. ophthalm. Ges. Heidelberg **1927**.
- POLICARD, A.: Documents cytologiques sur les éléments du foie foetal de mammifères cultivé in vitro. C. r. Assoc. Anat. **19** (1924).
- Recherches sur les cultures du tissu rénal de mammifères. Bull. Histol. appl. **2** (1925).
- Recherches sur la culture in vitro de tissu rénal. Signification des cordons épithéliaux néoformés. C. r. Soc. Biol. Paris **92** (1925).
- Sur les phénomènes nucléaires au cours du développement in vitro des tissus conjonctifs et épithéliaux. C. r. Soc. Biol. Paris **93** (1925).
- Recherches cytologiques et histo-physiologiques sur les cellules sarcomateuses observées dans les explantations in vitro. Bull. Histol. appl. **3** (1926).
- Notions apportées par les cultures de tissus à la connaissance des mécanismes cancéreux. Bull. Histol. appl. **3** (1926).
- Résultats de l'explantation in vitro de granulomes à cellules géantes produits expérimentalement par injection de terre à diatomées. C. r. Soc. Biol. Paris **96** (1927).
- La méthode des cultures et son importance biologique. Arch. de Physiol. **6** (1928).
- et M. BOUCHARLAT: Résultats des explantations in vitro de périoste et de périchondre. C. r. Soc. Biol. Paris **93** (1925).
- — Recherches sur les explantations de périoste et de périchondre. Arch. exper. Zellforsch. **2** (1926).
- — Sur le mécanisme des caractères favorables du plasma des animaux sarcomateux comme milieu pour la culture des tissus. C. r. Acad. Sci. Paris **182** (1926).
- — Le cal de fracture étudié par la méthode des explantations in vitro. Bull. Histol. appl. **4**, 1 (1927).
- POPOFF, N.: The histogenesis of the thymus as shown by tissue cultures. Arch. exper. Zellforsch. **4** (1927).
- PORTA, A.: Differenziazione di fibre elastiche in colture in vitro. Boll. Soc. ital. Biol. sper. **5** (1930).
- RÉNYI, G. S. DE and M. J. HOGUE: Studies on cardiac muscle cells, from chick embryos, grown in tissue culture. Anat. Rec. **70** (1938).
- RIENHOFF, W.: Development and growth of the metanephros of permanent kidney in chick embryos. Bull. Hopkins Hosp. **33** (1922).
- ROBB-SMITH, A. H. T.: Gewebeskultur aus der ausgewachsenen Kaninchenlunge. Beitr. path. Anat. **97** (1936).
- ROBINOW, C.: Experimental investigation in to the structure of simple epithelial sheets in tissue cultures. Arch. Zellforsch. **22** (1939).
- On the structure of epithelial membranes in tissue cultures. Protoplasma (Berl.) **27** (1937).
- RÖSSLE, R.: Wachstum der Zellen und Organe. Hypertrophie und Atrophie. Handbuch der normalen und pathologischen Physiologie, Bd. 14. 1926.

- ROULET, FR.: Studien über Knorpel- und Knochenbildung in Gewebeskulturen. Zugleich ein Beitrag zur Lehre der Entstehung der sogenannten Grundsubstanzen. Arch. exper. Zellforsch. 17 (1935).
- Über das Verhalten der Bindegewebsfasern unter normalen und pathologischen Bedingungen. Erg. Path. 32 (1937).
- ROUS, P.: Production of acid by tissues growing in vitro. Proc. Soc. Biol. a. Med. 10, 161 (1913).
- Relative reaction within living tissues. J. of exper. Med. 41 (1925).
- The virus tumors and the tumor problem. Amer. Canc. 28 (1936).
- and F. JONES: A method for obtaining suspensions of living cells from the fixed tissues for the plating out of individual cells. J. of exper. Med. 23 (1916).
- The protection of pathogenetic microorganisms by living tissue cells. J. of exper. Med. 23 (1916).
- The phagocytic power of connective tissue cells. J. of exper. Med. 25 (1917).
- RUMJANTZEW, A.: Beobachtungen über die Entwicklung des Herzmuskulgewebes bei Embryonen von Hühnern in vitro. Arch. exper. Zellforsch. 4 (1927).
- SABIN, F., C. DOAN and R. CUNNINGHAM: Discrimination of two types of phagocytic cells in the connective tissues by supravital technique. Contrib. to Embryol. 16 (1925).
- SCHOPPER, W.: Explantationsstudien an Blutgefäßen und serösen Häuten. (Untersuchungen am normalen und entzündlich veränderten Netz, an weichen Hirnhäuten und großen Gefäßen junger Meerschweinchen.) Beitr. path. Anat. 88 (1931).
- Das WALKER-Rattensarkom N 319 in der Gewebekultur. Arch. exper. Zellforsch. 14 (1933).
- Thymusgewebe in der Kultur mit vergleichenden kinematographischen Aufnahmen von Thymus und Milzkulturen. Zbl. Path. 60 (1934).
- Embryonales und erwachsenes Lungengewebe vom Meerschweinchen und Huhn in der Kultur mit Zeitrafferbeobachtungen an Flimmerepithel, sogenannten Alveolarphagocyten und von Kontraktionen der Bronchialmuskulatur. Virchows Arch. 295 (1935).
- Über künstliche Gewebezüchtung und ihre Bedeutung für die Medizin. Jber. ärztl. Fortbildg 29 (1938).
- SILBERBERG, M.: Endothel in der Gewebekultur. Arch. exper. Zellforsch. 9 (1928).
- SPADAFINA, L.: Contributo allo studio della culture in vitro di midollo osseo. Arch. exper. Zellforsch. 17 (1935).
- SPEMANN, H.: Experimentelle Beiträge zu einer Theorie der Entwicklung. Berlin 1936.
- STOCKARD, CH. R.: Present state of the problem of the so called rejuvenation. Bull. N.Y. Acad. Med. 4 (1928).
- The physical basis of personality. New York 1931.
- STRANGWAYS, D.: Some comparative observations of fibroblasts and non granular leucocytes cultivated in vitro. Arch. exper. Zellforsch. 8 (1929).
- STRANGWAYS, T. S.: The technique of tissue culture in vitro. Cambridge 1924.
- Tissue culture in relation to growth and differentiation. Cambridge 1924.
- and R. G. CANTI: Dark-ground illumination of tissue cells cultivated in vitro. Brit. med. J. 1926, Nr. 3420.
- and H. FELL: Experimental studies on the differentiation of embryonic tissues growing in vitro and in vivo. Proc. roy. Soc. Lond. 99 (1925).

- STRANGEWAYS, T. S. and FELL: Experimental studies on the differentiation of embryonic tissues growing in vivo and in vitro. II. The development of the isolated early embryonic eye of the fowl when cultivated in vitro. Proc. roy. Soc. Lond. **100** (1926).
- STUDITSKY, A. N.: Über das Wachstum des Knochengewebes und Periosts in vitro und auf der Allantois. Arch. exper. Zellforsch. **13** (1932).
- SZANTROCH, Z.: Zur Methodik der Fettfärbung in Gewebekulturen. Virchows Arch. **1932**.
- Ricerche sulle sostanze grasse intracellulari in vari tessuti coltivati in vitro. R. acad. Lincei **15** (1932).
- Beobachtungen an den Kulturen des Sympathicus. Ergebnisse der Züchtung des REMAKSchen Darmnerven. Arch. exper. Zellforsch. **14** (1933).
- TANNENBERG, J.: Über die Entwicklungspotenzen der Fibroblasten in der Gewebekultur. I. Das Verhalten von Fibroblastenreinkulturen bei Vergiftung mit Atropin. Arch. exper. Zellforsch. **9** (1929).
- Blut- und Bindegewebe. Über die Umwandlungsfähigkeit der Fibroblasten in Makrophagen. Arch. exper. Zellforsch. **11** (1931).
- THOMAS, A.: La culture de la paroi de la vésicule ombilicale de l'embryon du poulet. Étude morphologique des premiers stades. C. r. Assoc. Anat., XXVIII. Réun. **1933**.
- La culture pure du syncytium vitellin ombilicale de l'embryon de poulet. C. r. Acad. Sci. Paris **196** (1933).
- La culture de la paroi de la vésicule ombilicale chez l'embryo du poulet. La culture pure du syncytium entodermo-vitellin. Arch. exper. Zellforsch. **15** (1934).
- La transformation in vitro de la cellule entoblasto-vitelline en macrophages. C. r. Soc. Biol. Paris **117** (1934).
- Aspect physiologique de la transformation spontanée in vitro des fibrocytes en macrophages. C. r. Acad. Sci. Paris **199** (1934).
- L'édification de fibres collagènes par l'entoblaste vitellogène chez le poulet. Ses rapports avec la structure histiotypique in vitro. C. r. Soc. Biol. Paris **118** (1935).
- Un mode nouveau de multiplication cellulaire directe: la méroamitose. C. r. Acad. Sci. Paris **201** (1935).
- La transformation des cellules en histiocytes. Arch. exper. Zellforsch. **19** (1937).
- Un flacon nouveau pour la culture des tissus sur une lamelle amovible. Arch. exper. Zellforsch. **20** (1937).
- Un appareil à nacelle amovible pour la culture des tissus en assez grande masse ou pour la transplantation in vitro. Arch. exper. Zellforsch. **20** (1937).
- Recherches sur les transformations, la multiplication et la spécificité des cellules hors de l'organisme. La cellule vitelline. Les cellules du type fibrocyte et du type histiocyte. Extr. Ann. des Sci. natur., Zool., XI. s. **1** (1938).
- Au sujet de considérations qui viennent d'être publiées sur le mode de multiplication cellulaire nommé: méroamitose. Arch. exper. Zellforsch. **21** (1938).
- Des épithéliums en culture et dans l'organisme. Arch. exper. Zellforsch. **22** (1938).
- THOMSON, D.: Some further researches on the cultivation of tissues in vitro. Proc. roy. Soc. Med. **7** (1914).
- Controlled growth en masse (somatic growth) of embryonic chick tissue in vitro. Proc. roy. Soc. Med. **7** (1914).
- ТИМОФЕЈВСКИЙ, А.: Über Leukocytenkulturen des Menschenblutes in vitro. Arch. exper. Zellforsch. **6** (1928).

- TIMOFEJEWSKY, A.: Neue Beobachtungen an lymphoiden Zellen der myeloiden und lymphatischen Leukämie in Explantationsversuchen. Arch. exper. Zellforsch. **8** (1929).
- u. S. BENEWOLENSKAJA: Explantationsversuche von weißen Blutkörperchen mit Tuberkelbazillen. Arch. exper. Zellforsch. **2** (1925).
- Prospektive Potenzen der Myeloblasten auf Grund von Explantationsversuchen. Virchows Arch. **263** (1927).
- TÖRÖ, E.: Das organoide Wachstum der Darmkulturen. Arch. exper. Zellforsch. **9** (1929).
- Beiträge zur kausalen Genese der Knorpel- und Knochenentwicklung. Anat. Anz. **80** (1935).
- Untersuchungen über die Potenz der Endothelzellen bei der Gefäßbildung in der Gewebekultur. Arch. exper. Zellforsch. **20** (1937).
- Neue Untersuchungen zur Wirkung des embryonalen Herztraktes. Arch. exper. Zellforsch. **22** (1938).
- TSCHASSOWNIKOW, N.: Über die in vitro-Kulturen des Thymus. Arch. exper. Zellforsch. **3** (1926).
- UHLENHUTH, E.: Die Zellvermehrung in den Hautkulturen von *Rana pipiens*. Roux' Arch. **42** (1916).
- VERATTI, E.: Ricerche istologiche su alcuni tessuti in istato di sopravvivenza in vitro. Boll. Soc. med. chir. Pavia **1919**.
- Osservazione istologiche sul tessuto miocardico coltivato in vitro. R. Ist. lombardo Sci. e Letta **53** (1920).
- Colture in vitro di sangue umano normale e pathologico. Haematologica (Pavia) **1927**.
- Gli elementi del sangue e degli organi ematopoetici nelle colture in vitro. Le Emopatie di A. FERRATA. Soc. ed. libr. Milano 1933.
- VERNE, J.: La névroglie dans les cultures de tissu nerveux. C. r. Assoc. Anat., XXV. Réun. **1930**.
- Observations sur l'épithélium pulmonaire de l'embryon de poulet et du poussin dans les cultures «in vitro». C. r. Assoc. Anat., XXVII. Réun. **1932**.
- Observations sur le comportement de l'épithélium utérin dans les cultures in vitro. Action de la folliculine. C. r. Assoc. Anat. XXX. Réun. **1935**.
- La vie cellulaire hors de l'organisme. La culture des tissus. Paris: Doin & Cie. 1937.
- et D. ODIETTE: Expériences sur l'action de l'hormone thyroïdienne vis-à-vis des cellules cultivées hors de l'organisme. C. r. Soc. Biol. Paris **122** (1936).
- et CH. SANNIÉ: Recherches sur l'action des sels métalliques sur les cultures de tissu in vitro. Bull. Soc. Chim. biol. Paris **15** (1933).
- — Recherches sur l'action des chlorures métalliques sur les cultures de tissus in vitro. Bull. Soc. Chim. biol. Paris **17** (1935).
- Action des ions Pb^{++} et Cu^{++} sur les fibroblastes sarcomateux en culture. Bull. Acad. Med. Paris **117** (1937).
- et A. VERNE-SOUBIRAN: La part du glutathion dans l'action du jus embryonnaire sur la croissance des cultures de fibroblastes in vitro. C. r. Soc. Biol. Paris **127** (1938).
- VOGT, W.: Gestaltungsanalyse am Amphibienkeim mit örtlicher Vitalfärbung. Vorwort über Wege und Ziele. I. Teil. Methodik und Wirkungsweise der örtlichen Vitalfärbung mit Agar als Farbstoffträger. Roux' Arch. **106** (1925).
- Über Wachstum und Gestaltungsbewegungen am hinteren Körperende der Amphibien. Anat. Anz. Erg.-H. **61** (1926).
- Mosaikcharakter und Regulation. Verh. dtsh. zool. Ges. **1928**.
- Gestaltungsanalyse am Amphibienkeim mit örtlicher Vitalfärbung. II. Teil. Gastrulation und Mesodermbildung bei Urodelen und Anuren. Roux' Arch. **120** (1929).

- WADDINGTON, C. H.: Experiments on early chick and duck embryos cultivated in vitro. Arch. Zellforsch. **11** (1931).
- WALLBACH, G.: Farbspeicherungsstudien an Gewebekulturen. Arch. exper. Zellforsch. **10** (1931).
- WEISS, P.: Experimentelle Organisation des Gewebewachstums in vitro. Biol. Zbl. **48** (1928).
- Erzwingung elementarer Strukturverschiedenheiten am in vitro wachsenden Gewebe. Roux' Arch. **116** (1929).
- WEITZMANN, G.: Epithel und Carcinom des erwachsenen Menschen in vitro. Arch. exper. Zellforsch. **22** (1939).
- Die Züchtung von Kulturen aus menschlichen Pleura- und Peritonealergüssen. Arch. exper. Zellforsch. **22** (1939).
- R. MEIER u. E. POSERN: Über das Verhalten der blutbildenden Organe des erwachsenen Menschen in vitro. Virchows Arch. **299** (1937).
- WELLS, A. Q. and E. A. CARMICHAEL: Microglia. An experimental study by means of tissue culture and vital staining. Brain **53** (1930).
- WERMEL, E. u. Z. IGNATIEWA: Studien über Zellengröße und Zellenwachstum. I. Über die Größenvariabilität der Zellkerne verschiedener Gewebearten. Z. Zellforsch. **16** (1932).
- — II. Über die Veränderung der Zellgrößen bei Gewebeexplantation. Z. Zellforsch. **16** (1932).
- WIERSZINSKY, A.: Über die freien Zellen der serösen Exsudate, ihren Ursprung, ihre genetischen Wechselbeziehungen und ihre prospektiven Potenzen. Hematologica (Pavia) **1**, 5 (1924).
- Vergleichende Untersuchungen über Explantation und Transplantation von Knochen, Periost und Endost. Virchows Arch. **251** (1924).
- WILLMER, E. N.: Studies on the influence of the surrounding medium on the activity of cells in tissue culture. Brit. J. exper. Biol. **4** (1927).
- Tissue culture; the growth and differentiation of normal tissues in artificial media (METHUEN'S monogr. on biol. subjects. Ed. by G. R. de Beer). London 1935.
- WITTE, G.: Chirurgisch bemerkenswerte Forschungsergebnisse der Gewebezüchtung. Dtsch. Z. Chir. **248** (1936).
- YAMAGUCHI, M.: Cytologische und histologische Untersuchungen von Milzkulturen der eben geborenen Ratte. Arch. exper. Zellforsch. **10** (1930).
- ZIMMERMANN, A. u. A. HASKÓ: Über Differenzierung der Gewebe in Kulturen. BAUM-Festschrift 1929.
- ZONDEK, B. u. E. WOLF: Über die Züchtung von menschlichem Ovarialgewebe in vitro. Zbl. Gynäk. **48** (1924).
- ZWEIBAUM, J.: Analyse histologique de l'épithélium vibratile en état de survie in vitro. C. r. Soc. Biol. Paris **93** (1925).
- Sur l'action du plasma vieilli sur la croissance du tissu cultivé in vitro. Bull. Assoc. Anatomistes **1936**.
- et A. M. SZEJNMAN: Recherches sur les cellules binucléés dans le tissu cultivé in vitro. Arch. exper. Zellforsch. **18** (1935).
- et A. WOJCIECHOWSKI: Sur la culture de l'omentum. C. r. Assoc. Anat. XX. Réun. **1925**.
- ZYMBAL, W. E.: Über die Verwandlungen des Epithels der Ohrspeicheldrüse im Explantat. Arch. exper. Zellforsch. **12** (1932).
- Experimentell-histologische Untersuchungen über das Epithelgewebe des Metanephros. Arch. exper. Zellforsch. **18** (1935).

Namenverzeichnis.

Kursiv gesetzte Zahlen geben die Seite der ausführlichen *Literaturangabe* wieder.

- | | | |
|---|--|--|
| <p>Aberhalden, E. 97, 102, 153, 154, 236, 493.
— R. 97.
Abolin, L. 226, 243.
Achard, Chr. 192, 243.
Achtenberg 201, 202.
Adachi, A. 369, 484.
Adam, W. 244.
Adler, E. 157.
Akamutsu, N. 370, 484.
Allee, W. C. 184, 201, 244, 258.
Allen 211.
Allison, F. E. 51, 52, 154.
Allman, F. R. S. 272, 288.
Alm 241.
Almoslechner, E. 104, 154.
Alsterberg, G. 177, 184, 189, 194, 198, 199, 201, 207, 208, 213, 221, 244.
Alt, H. L. 193, 244.
Amberson, W. R. 237, 244.
Amoroso, E. 370, 484.
Andai, G. 484.
Andersag, H. 23, 93, 154.
Andersen, A. A. 172.
Andrews, J. A. 493.
Annandale, N. 267, 287.
Apathy 404, 405, 413.
Arndt, W. 264, 265, 267, 268, 287.
Artom, C. 223, 254.
Aschoff, L. 378, 428, 429, 432, 451, 484.
Asthana, R. P. 154.
Astrup, Tage 494.
Atkin, L. 111, 116, 169.
Avery, O. T. 126, 129, 170.
Aworow, P. 421, 484.</p> | <p>Baarn 62, 80.
Babák, E. 205, 207, 208, 223, 226, 244, 264, 271, 275, 277, 284, 287, 288.
Bachmann, F. M. 102, 154.
Bader, R. 214, 217, 244.
Baglioni, S. 198, 244, 275, 279, 288.
Baitsell, G. 385, 386, 388, 484.
Baker, L. 352, 418, 456, 460, 462, 463, 464, 475, 476, 478, 479, 481, 484, 489.
Bakker, A. 442, 484, 485.
Barcroft, H. 229, 231, 244.
— J. 226, 228, 229, 230, 231, 235, 236, 244.
Barger, G. 154.
Bargmann 350, 351, 353.
Barnes, T. C. 218, 244.
Barron, G. 250.
Barta, E. 370, 423, 485.
Barth, L. G. 191, 244, 278, 288.
Bartley, M. A. 97, 167.
Bastert, Chr. 215, 223, 244.
Baudrimont, A. 223, 253.
Bauer 64.
— K. 336, 339, 362, 366, 370, 371, 373, 381, 384, 385, 386, 397, 399, 401, 405, 406, 410, 411, 412, 416, 417, 423, 425, 426, 427, 428, 432, 435, 436, 437, 450, 463, 477, 478, 479, 481, 482, 485.
Baumann, F. 311, 312, 319, 320, 325, 327, 334.</p> | <p>Baunacke, W. 198, 244.
Bautzmann, H. 341, 485.
Beadle, L. C. 184, 188, 212, 213, 214, 216, 218, 220, 221, 233, 245, 246.
Beck, V. 490.
Beijerinck 51.
Belkin, Morris 490.
Bell, A. F. 116, 157.
Benecke, W. 200, 245, 343, 482.
Benenson, M. 498.
Benewolenskaja, S. W. 422, 485, 511.
Benzinger, Th. 176, 204, 245.
Bergel, F. 23, 154, 171.
— S. 428, 485.
Bergent 125.
Bergmann, H. F. 198, 245, 425.
Berkefeld 55, 473.
Berlese et de Toni 41.
Bernard, Cl. 343.
Bert, P. 192, 245.
Bertrand, G. 12, 18, 154.
Bethe, A. 204, 245, 273, 275, 288, 413.
Beutler, R. 197, 199, 200, 201, 214, 215, 245, 271, 272, 273, 275, 276, 277, 278, 280, 283, 285, 286, 288.
Bidder, G. P. 263, 264, 265, 266, 267, 287.
Bielschowsky, W. 399, 486.
Bier, A. 453, 454, 485.
Binet, L. 237, 243, 245, 370, 486.
Birge, A. 177, 178, 180, 181, 183, 200, 245.
Bisceglie, V. 355, 369, 436, 438, 439, 486.</p> |
|---|--|--|

- Bjälffe, G. 52, 53, 154, 164.
 Black, C. 233, 245.
 Bland 436.
 Blaszo, A. 370, 486.
 Bloom, W. 378, 383, 384, 385, 386, 389, 422, 423, 429, 486.
 Blumer, S. 44, 45, 46, 47, 48, 49, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 76, 79, 81, 82, 154, 169.
 Boas, F. 64, 104, 151, 154.
 Bode, B. 148, 154.
 Boeke, J. 359, 360, 362, 400, 486.
 Boelaert, R. 217, 260.
 Böker, H. 217, 245.
 Börnstein 370.
 Börner, R. 423, 424, 486.
 Boffill-Deulofeu, J. 385, 386, 486.
 Bohn, G. 277, 279, 284, 288, 289.
 Bohr, Chr. 245.
 Bolen, B. 210, 237, 245.
 Bollen, W. B. 163.
 Bomskov, Chr. 154.
 Bonner, J. 51, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 89, 94, 97, 115, 151, 154.
 Borden, A. 229, 245.
 Borghese, E. 486.
 Borman, J. 293, 294, 295, 296, 297, 298, 299, 301, 302, 304, 307, 308, 309, 310, 319, 322, 323, 324, 325, 334.
 Borrel, A. 347, 436, 438, 486.
 Bortels, H. 13, 155.
 Boschma, H. 283, 284, 288.
 Both, P. 199, 245.
 Botjes, O. 199, 205, 207, 245.
 Bottomley, W. B. 5, 155.
 Boucharlat, M. 390, 392, 460, 508.
 Bounhiol, J. P. 245.
 — M. J. 192, 193, 199, 245.
 Boussignault 184.
 Bouvier 278.
 Bowen, J. F. 116, 156.
 Boysen-Jensen, P. 21, 139, 155.
 Brachet, A. 440, 486, 487.
 Brand, Th. Frhr. von 184, 189, 191, 192, 193, 194, 196, 237, 245, 279, 280, 284, 288.
 Brandi 453.
 Brandt, K. 284, 288.
 Braun, Fr. 223, 246.
 Braus, H. 338, 487.
 Brefeld 43.
 Brehm, V. 178, 179, 185, 246.
 Bremer, H. J. 114, 155.
 Broch, H. 271, 283, 288.
 Brocher, Fr. 222, 246.
 Brönstedt, N. 180, 246.
 Brown 91.
 Browning, E. R. 155.
 Brown-Séguard 451.
 Brues, T. 190, 246.
 Brujewicz, S. W. 180, 246.
 Bruns 487.
 Bucciante, L. 393, 423, 487, 499.
 Buchanan, J. W. 240, 246.
 Buch-Andersen, E. 487.
 Buchman, E. R. 60, 79, 80, 94, 154, 155, 172.
 Buchner, P. 155.
 Buchsbaum, R. 345, 487.
 Buck, E. 268, 287.
 Buddenbrock, W. von 174, 192, 193, 204, 227, 246, 269, 270, 271, 279, 280, 281, 282, 284, 286, 287, 288.
 Bünning, E. 20, 21, 155.
 Bunting 448, 487.
 Burgeff, H. 26, 140, 148, 149, 155.
 Burk 52.
 Burkhardt, L. 487, 497.
 Burkholder, P. 155.
 Burrows, H. J. 487.
 — M. T. 340, 347, 357, 362, 370, 393, 394, 395, 397, 423, 425, 436, 454, 457, 487, 489.
 Burström, D. 53, 164.
 Busse, O. 487.
 Buston, W. H. 116, 117, 155.
 Caffier, P. 370, 421, 422, 487, 488.
 Cailleau, R. 112, 124, 137, 138, 155.
 Cajal, R. y 338, 398, 402, 411, 488.
 Cameron 224.
 Campbell, J. A. 192, 193, 246.
 Canti, R. G. 509.
 Carelton 370.
 Carlgren, O. 274, 289.
 Carmichael 420.
 Carrel, A. 337, 339, 340, 342, 343, 344, 345, 346, 348, 349, 351, 352, 355, 356, 360, 361, 362, 369, 370, 374, 376, 378, 386, 394, 401, 416, 420, 421, 423, 425, 428, 429, 430, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 444, 449, 450, 451, 454, 455, 456, 457, 458, 459, 460, 461, 468, 469, 473, 474, 476, 477, 478, 480, 482, 488, 489.
 Carter, G. S. 178, 184, 212, 213, 216, 218, 219, 221, 225, 233, 246.
 Cary, L. R. 276, 281, 284, 289.
 Castren, H. 451, 489.
 Caullery, M. 155.
 Cerecedo, L. R. 159.
 Chaix, P. 125, 170.
 Chamberland 55.
 Chambers, R. 357, 360, 450, 489, 490.
 Champy, C. 352, 369, 370, 371, 372, 393, 435, 438, 445, 486, 490.
 Charles, E. 178, 261.

- Chen, T. Y. 237, 246.
 Chevey, L. 246.
 Chevillard, L. 238, 246, 248.
 Chlopin, A. 490.
 — N. 360, 368, 370, 378, 380, 385, 387, 438, 490.
 Chlopkow, A. M. 369, 490.
 Christian, W. 87, 121, 129, 134, 142, 171.
 Clara, M. 364, 369, 490.
 Clark, E. R. 341, 490.
 — R. H. 114, 155.
 Claus, A. 187, 188, 246.
 Clausen, H. 311, 315, 318, 319, 326, 335.
 — R. G. 246.
 Cleveland, L. R. 193, 247.
 Clevey 202.
 Cline, J. K. 60, 93, 156, 172.
 Cohen, S. 137, 164.
 Cohnheim 341.
 Cole, A. E. 183, 247.
 Colosi, G. 211, 218, 247.
 Compton 441.
 Comroe, J. H. 223, 247.
 Cook, S. F. 193, 237, 247.
 Coolidge 228.
 Cooping, A. M. 63, 103, 156.
 Cormichael, E. A. 512.
 Correns, C. 43, 156.
 Costero, J. 420, 490.
 Coward, K. H. 5, 124, 156, 159.
 Craciun, E. C. 490, 491.
 Crozier, J. 206, 247.
 Cuénot, L. 174, 247.
 Cunningham, J. T. 214, 247.
 — R. S. 421, 429, 430, 432, 491, 509.
 Dagens, J. 8, 19, 103, 115, 156.
 Dahr, E. 204, 206, 247.
 Dakin, W. J. 287.
 Dam, L. van 205, 206, 207, 209, 210, 214, 215, 218, 220, 222, 229, 235, 237, 247, 268, 287.
 Das, B. K. 212, 216, 247.
 Dausend, K. 207, 231, 232, 240, 247.
 Davey, D. G. 194, 247.
 Davis, D. J. 126, 147, 156.
 — G. 232, 247.
 Dawson, J. 200, 247.
 Decksbach, N. K. 241, 247.
 Defago 72.
 Dejdard, E. 200, 247.
 Delage, Y. 267, 287.
 Delorenzi, E. 491, 499.
 Dembrowsky 443.
 Demoll, R. 204, 247.
 Demuth, F. 370, 391, 491, 494.
 Devloo, R. 102, 106, 112, 113, 114, 156.
 Dewitz 212, 247.
 Dijk, S. van 216, 248.
 Dijkstra, S. J. 205, 210, 211, 212, 248.
 Dill, B. 250, 254.
 Doan, C. A. 421, 429, 430, 432, 491, 509.
 Dodds, G. S. 184, 224, 248.
 Dogliotti 355.
 Doljansky, L. 340, 347, 351, 352, 366, 369, 370, 378, 385, 386, 390, 392, 423, 425, 491, 494.
 Dolk, H. E. 222, 230, 231, 240, 248.
 Doms 248.
 Donath, W. F. 22, 159.
 Dorfman, A. 132, 134, 156, 160.
 Dotterweich, H. 223, 248.
 Drastich, L. 226, 248.
 Drew, A. H. 370, 371, 438, 439, 491.
 Driesch, H. 338, 445, 449.
 Drummond, J. C. 26, 124, 159.
 Dryewina, A. 279, 284, 289.
 DtMaria 148.
 Dubin, H. E. 158.
 Duecker, W. W. 103, 158.
 Duerden, J. E. 283, 289.
 Dürken 338, 341, 483.
 Duggar, B. M. 21, 55, 172.
 Durst, J. 176, 248.
 Dusi, H. 32, 51, 54, 61, 67, 77, 79, 80, 81, 82, 96, 100, 162, 163.
 Dustin, A. 491.
 Duval, M. 188, 248.
 Eades 448, 487.
 Eagles, B. A. 116, 156.
 Eastcott, E. V. 103, 104, 105, 109, 156, 163.
 Ebeling, A. 340, 346, 352, 354, 360, 362, 369, 370, 374, 378, 420, 421, 430, 435, 436, 439, 444, 450, 451, 455, 456, 457, 458, 464, 484, 489, 491, 492, 502.
 Eckardt, H. 330, 334.
 Eddy, W. H. 102, 103, 156.
 Edie, E. S. 287.
 Ege, R. 222, 223, 248.
 Eijkman, C. 22, 156.
 Eisner, J. 423, 492.
 Elder, M. L. 112, 113, 114, 156.
 Eleonskaja 369.
 Elliot, E. 244, 422.
 Elvehjem, C. A. 86, 123, 131, 157, 161, 162.
 Enders, C. 104, 157.
 Engelmann, Th. W. 200, 284, 289.
 English, J. jr. 115, 154.
 Ephrussi, B. 191, 248, 340, 370, 378, 430, 492.
 Epprecht, A. 157.
 Erdmann, Rh. 341, 344, 360, 378, 386, 422, 425, 438, 439, 492.
 Erickson, J. 76, 77, 79, 89, 154.
 Erlenmeyer, H. 87, 157.
 Esaki, S. 370, 397, 405, 419, 492.
 Euler, H. v. 86, 102, 115, 120, 129, 130, 157, 168.
 Eyre, J. 178, 258, 291.

- Fang-Sing-Fang 21, 165.
 Fano 370.
 Farrell, L. N. 112, 157.
 Farries, E. H. M. 116, 157.
 Faurét-Frémit, E. 191, 248, 493.
 Fawns, H. T. 157.
 Fazzari, J. 381, 423, 493.
 Federew, B. G. 493.
 Fehlmann, J. W. 180, 195, 248.
 Fell, H. B. 342, 352, 390, 391, 392, 393, 440, 442, 493, 509, 510.
 Felton, L. D. 465, 500.
 Fenger, F. 189, 254.
 Fildes, P. 11, 14, 51, 126, 127, 129, 132, 135, 157, 160.
 Findenegg, J. 182, 183, 248.
 Finkle, R. D. 160.
 Fischer, A. 11, 157, 338, 345, 346, 351, 353, 356, 357, 360, 361, 362, 366, 369, 370, 371, 372, 373, 378, 385, 390, 391, 421, 423, 425, 430, 434, 435, 436, 438, 439, 441, 443, 451, 454, 455, 456, 457, 458, 460, 461, 462, 487, 492, 493, 494, 503.
 — C. 252, 269, 287.
 — P. H. 209, 248, 256.
 Fleisch, A. 204, 236, 248.
 Flexner 132, 436.
 Florkin, M. 227, 228, 229, 236, 248.
 Fontaine, M. 121, 158, 187, 248, 256.
 Foot, N. C. 425, 426, 494.
 Forssmann 454.
 Foustka 205, 207, 244.
 Fowler, O. M. 494.
 Fox, M. 185, 187, 195, 200, 203, 205, 206, 207, 228, 241, 248, 249.
 Foxon, H. 214, 249.
 Fraenkel, G. 249.
 Francescon 370.
 Freeman, L. 5, 158.
 Freifeld, H. 423, 494.
 Frey, C. H. 111, 116, 169.
 Friedheim, A. H. 193, 249, 391, 395, 396, 494.
 Fries, N. 8, 26, 29, 34, 37, 41, 42, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 68, 69, 70, 71, 73, 99, 117, 118, 119, 120, 143, 157, 160.
 Frisch, von 218.
 Fromageot, C. 64, 68, 69, 70, 71, 98, 125, 157.
 Frost 157.
 Fulmer, E. J. 15, 103, 158, 161.
 Fulton, J. F. 278, 282, 284, 289.
 Funk, C. 5, 6, 24, 158, 172.
 Furth, J. 496.
 Gabbe, E. 210, 249.
 Gaillard, P. 458, 459, 494, 495.
 Le Gallois 468.
 Galtsoff, P. S. 186, 249.
 Gardener, J. A. 210, 249.
 Gardiner, J. S. 284, 289.
 Garofolini, L. 370, 495.
 Gartkiewicz, St. 237, 249.
 Gaschott, O. 213, 249.
 Gassul, R. 370, 495.
 Gaté, J. 165.
 Gaza, W. v. 453, 495.
 Geddes, P. 289.
 Geitler, L. 179, 249.
 Gemmill, J. F. 274, 289.
 Gerard, R. W. 238, 249.
 Gessner, F. 237, 249.
 Gladston, G. P. 135, 157, 158.
 Glees, P. 495.
 Gey, G. O. 337, 346, 438, 454, 501.
 Gicklhorn, J. 200, 247.
 Gieschen, K. 423, 495.
 Ginsburg 423.
 Girardet, F. 13, 43, 161.
 Goddrich, H. 495.
 Godina, Giovanni 495.
 Goettsch 345.
 Goerttler 338, 341.
 Götsch, W. 215, 249, 283, 284, 285, 286, 289.
 Goldschmidt, R. 352, 491, 495.
 Gompel, M. 237, 249.
 Goodyear, G. H. 106, 171.
 Gordon, M. V. 160.
 Goss, C. M. 395, 396, 441, 445, 467, 495.
 Goudsmit, J. 86, 158.
 Grand, C. 490.
 Grassberger, R. 125, 158.
 Gratiolet, L. 293, 334.
 Grazia, Alfio di 486.
 Green, A. A. 236, 249.
 Greene 51, 151, 154.
 Grewe, R. 23, 83, 158.
 Griese, A. 134, 171.
 Grigorjeff, L. M. 397, 405, 419, 495.
 Grodzinski, Z. 495.
 Gromakowski, P. I. 64, 158.
 Grossfeld, H. 378, 495, 496.
 Grossmann, W. 425, 496.
 Grote, A. 177, 178, 183, 184, 189, 192, 196, 243, 249.
 Gudernatsch 454.
 Guillermond, A. 121, 158.
 Guittart, J. 175, 204, 205, 206, 212, 213, 252.
 Guthrie, C. 223, 249.
 Gutsell, J. S. 238, 249.
 Guyénot, E. 148, 158.
 Guyon, L. 506.
 Haacke, W. 275, 289.
 Haagen, E. 421, 438, 439, 496.
 Haagen-Smit, A. J. 114, 151, 160.
 Haan, J. de 337, 347, 360, 422, 423, 428, 429, 442, 444, 496.
 Haase-Eichler, R. 199, 249, 277, 278, 285, 286, 289.

- Haberlandt 454.
 Hadijoloff, A. 370, 496.
 Haeckel, E. 273, 289, 341.
 Haempel, O. 192, 249.
 Haffner, K. von 214, 249, 283, 284, 285, 289.
 Hagedörfer, M. 104, 157.
 Hahn, M. 64, 158.
 Halbfass, W. 178, 250.
 Hall, F. G. 176, 206, 209, 233, 234, 235, 236, 237, 250, 254.
 Hall, J. 496.
 — V. E. 250.
 Hamlin, H. 297, 299, 300, 303, 334.
 Hamon, F. 238, 246, 250.
 Hanes, F. M. 395, 435, 436, 438, 451, 498.
 Hansen 140.
 Hansteen-Cranner, B. 158.
 Harder, R. 102, 129, 188, 250.
 Harms, J. W. 178, 218, 219, 221, 250, 452.
 Harnisch, O. 187, 192, 193, 194, 196, 207, 224, 227, 229, 231, 232, 238, 239, 240, 241, 245, 250, 276, 279, 289.
 Harrison, R. G. 338, 340, 357, 397, 398, 440, 457, 483, 496, 497.
 Hartelius, V. 15, 17, 18, 19, 20, 31, 109, 110, 114, 115, 146, 158, 164, 165.
 Hartree 128.
 Harvey, E. B. 191, 251.
 Hase, A. 271, 275, 289.
 Haskó, A. 512.
 Hasselbach, R. 245.
 Hasselt, W. van 104, 105, 110, 111, 113, 114, 115, 158, 160.
 Hawker, H. 71.
 — L. E. 118, 154, 158.
 Hazelhoff, E. H. 204, 208, 209, 219, 231, 251, 263, 268, 287.
 Heberdey, R. F. 177, 207, 222, 251.
 Heft, H. L. 102, 156.
 Hegarty, C. P. 124, 166.
 Heidenhain, M. 390, 432, 497.
 Heim, R. 497.
 Held, H. 338, 355, 358, 360, 361, 362, 363, 371, 373, 385, 388, 399, 400, 402, 403, 404, 406, 408, 413, 414, 415, 418, 419, 420, 430, 433, 449, 497.
 Helff, O. M. 238, 251.
 Henderson, L. J. 251.
 Hennessy, D. J. 159.
 Hentschel, E. 262.
 Henze, M. 276, 279, 282, 289.
 Hepner, J. 223, 244.
 Herford, B. 249.
 Heringa 387.
 Hérouard, E. 267, 287.
 Hershey, J. W. 192, 251.
 Herter, K. 191, 197, 251.
 Hertwig, O. 430.
 — R. 271, 289.
 Herwerden, M. van 425, 497.
 Herzfeld, P. 295, 334.
 Herzog, G. 378, 424, 428, 430, 432, 497.
 Hess, W. R. 210, 215, 251.
 Hesse, R. 184, 185, 190, 195, 222, 251.
 Hewitt, L. F. 14, 159.
 Hiestand, W. A. 238, 251.
 Hilber, H. 225, 251.
 Hills, G. M. 86, 159.
 Hintzsche, E. 392, 497.
 Hirschfeld, H. 421, 422, 497.
 His, W. 362, 405, 432, 443, 446, 447, 448, 449, 451, 452, 483.
 — Y. 132.
 Hisaw, F. L. 184, 224, 248.
 Hjorth-Hansen, Sv. 19, 158.
 Hoeppli 190.
 Hofer, J. W. 170.
 Hoffmann, C. 188, 251.
 — R. 352, 491.
 Hogben, E. 178, 251.
 Hogan, A. G. 97, 167.
 Hogg, E. G. van t' 148, 159.
 Hogue, M. J. 396, 497, 508.
 Holiday, D. 106, 171.
 Holtfreter, J. 341, 440, 497.
 Hoover 52.
 Hora, S. L. 211, 216, 225, 251.
 Hortegas, Rio 415, 420.
 Hotovy, R. 213, 251.
 Hovasse, R. 278, 289.
 Hubault, E. 177, 178, 179, 180, 185, 195, 251.
 Hueck, W. 375, 378, 384, 385, 390, 428, 431.
 Huesselman, B. 158.
 Hughes, T. P. 131, 159.
 Hurd, L. 228, 233, 234, 257.
 Hutchinson, G. E. 179, 251.
 Huzella, Th. 356, 360, 378, 385, 386, 387, 389, 423, 429, 497.
 Hykes, O. V. 205, 251.
 Hyman, H. L. 238, 240, 251.
 — L. B. 269, 270, 287.
 Ide, M. 102, 106, 159.
 Ignatiewa, Z. 355, 356, 512.
 Ingebrigtsen, R. 397, 457, 497, 498.
 Ingraham, M. A. 125, 159.
 Ingram, G. L. Y. 11, 171.
 Ingvar, S. 498.
 Irving, L. 223, 224, 233, 235, 236, 245, 251, 252, 254.
 Ishida, Sh. 187, 252.
 Ishimaru, H. 503.
 Itzerott, D. 50, 159.
 Izquierdo, J. J. 252.

- Jablonski, W. 369, 443, 498, 503.
 Jacobs, S. E. 139, 170.
 — W. 272, 289.
 Jameson, H. L. 124, 159.
 Janisch, E. 200, 252.
 Jansen, B. C. P. 22, 83, 159.
 Jasswoin 384.
 Javilliers, M. 12, 18, 154, 159.
 Jensen, P. 197, 252.
 Jewell, M. E. 269, 287.
 Jobling 436.
 Johne 11.
 Johnson, M. L. 203, 205, 207, 249, 252.
 — R. 102, 156.
 Jolly 441.
 Jones 357.
 Jordan, H. 174, 175, 176, 204, 205, 206, 212, 213, 223, 228, 229, 230, 252.
 — H. J. 263, 287.
 Jost, L. 200, 245.
 Juday, Ch. 177, 178, 180, 181, 183, 184, 192, 200, 245, 252.
 Juhasz-Schäffer, A. 486, 498.
 Jung, A. 7, 21, 22, 24, 26, 41, 59, 61, 68, 69, 70, 71, 83, 89, 123, 124, 125, 157, 159, 169.
 Jürgens, O. 187, 207, 230, 252.
- Kadzillawa, A. S. 156.
 Kahlbaum 23, 24, 44, 56.
 Kahmann, H. 306, 308, 309, 311, 313, 314, 315, 316, 317, 318, 319, 320, 321, 323, 328, 329, 330, 331, 334.
 Kalabuchow, N. J. 190, 252.
 Kalle 241.
 Kaltschmidt, H. 160.
 Kapel, C. 507.
 — O. 369, 370, 412, 413, 442, 498.
 Kappers, A. 406.
- Karny, H. 214, 252.
 Karrer, P. 87, 123, 159.
 Karsinkin, S. 179, 253.
 Karsten, G. 198, 252.
 Kasinathan, S. 116, 155.
 Kathariner, L. 305, 335.
 Katzenstein, W. 370, 498.
 Kavanagh, F. 34, 38, 39, 61, 64, 67, 68, 69, 70, 71, 76, 77, 79, 80, 81, 83, 90, 91, 98, 167.
 Kawaguti, S. 252.
 Keilin, D. 128, 129, 131, 159, 194, 252.
 Kempner, W. 238, 252.
 Kepner 273, 284, 289.
 Keresztesy, J. C. 60, 123, 155, 159, 172.
 Kerkhoff, H. 297, 298, 235.
 Kerl, J. 21, 140, 159.
 Kerr, R. W. 103, 156.
 Kestner, Z. 236, 252.
 Keys, A. 176, 226, 236, 237, 252.
 Killian, H. 210, 252.
 King, G. 210, 249.
 — W. 228, 244.
 Kingery, L. B. 119, 163.
 Kinnersley, H. W. 84, 159, 166.
 Kirby, D. B. 369, 498.
 Kita, G. 159.
 Kladienko, D. 215, 252.
 Klein, E. 294, 335.
 Kleins, G. 172.
 Klöcker 140.
 Kluyver, A. J. 24, 140, 159.
 Knake, E. 370, 387, 498.
 Knight, B. C. J. G. 6, 11, 14, 51, 61, 69, 70, 71, 75, 76, 77, 79, 81, 96, 98, 99, 116, 125, 131, 132, 133, 134, 135, 150, 157, 159, 160.
 Knipowitsch, N. M. 186, 252.
 Knorr, M. 6, 125, 160.
 Koch, A. 148, 160.
 — H. 187, 200, 207, 210, 253.
 — H.-J. A. 253.
- Kögl 12, 18, 26, 41, 57, 68, 69, 70, 71, 73, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 120, 144, 151, 160.
 Kokubo, S. 206, 253.
 Kolodny, S. 250.
 Konopacki 240, 253.
 Kornfeld 453.
 Koser, S.-A. 6, 16, 132, 134, 156, 160.
 Koshanchikov, J. V. 230, 253.
 Kostermans, P. G. F. R. 18, 160.
 Kramer, G. 280, 281, 290.
 — H. 222, 223, 253, 260.
 Krawany, H. 174, 225, 252.
 Krebs, H. A. 86, 88, 160.
 Kreyberg 422.
 Krogh, A. 177, 207, 227, 232, 233, 238, 245, 252, 253, 263, 280, 281, 289.
 Krontowski, A. 498.
 Krüger, Fr. 193, 194, 231, 240, 253.
 Krumbach, Th. 273, 274, 279, 280, 281, 282, 290.
 Kubowitz, Fr. 238, 260.
 Kühn, A. 197, 253.
 Kühlmann, K. 210, 252.
 Kükenthal, W. 262, 276, 290.
 Kuhn, R. 123, 160.
 Kumpf, K. 316, 319, 327, 335.
 Kupfer 455.
 Kusnetzow, J. 179, 253.
- Laboray 21.
 Lacoste, A. 223, 253.
 Lake 395.
 Lambert, R. A. 385, 423, 435, 436, 438, 451, 498.
 Landolt-Börnstein 177, 253.
 Landsteiner, K. 439, 474, 475, 477, 481.

- Landy, M. 132, 133, 134, 161.
 Lang, F. 498.
 Lange, B. 46.
 Laquer, F. 172.
 Laser, H. 360, 423, 439, 492, 494, 498.
 Lash Miller 103, 105, 106, 108, 109, 114, 116.
 Laskowski, M. 222, 223, 253.
 Lasnitzki, J. 498.
 Lassen, H. K. 53, 161.
 Lasseur, Ph. 13, 161.
 Laubenfels, M. W. de 269, 287.
 Laurie, A. H. 224, 253.
 Lautenschlager, F. 297, 298, 299, 302, 303, 304, 335.
 Lauterborn, R. 189, 192, 253.
 Lawrentjeff 419.
 Lazarenko, T. 370, 397, 400, 401, 402, 405, 498.
 Leblanc, A. 243.
 Ledebur, Joachim Frhr. v. 173, 233, 253, 262, 272, 276, 278, 290.
 Lederer, E. 125, 151, 161, 163.
 Lehmann, B. 14, 15, 167.
 Leiner, M. 205, 214, 216, 218, 228, 230, 236, 239, 253, 260.
 Leitch, J. 253.
 — L. 229, 230, 232, 233, 253.
 Lendenfeld, R. v. 267, 287.
 Lendner, A. 41, 161.
 Lengyel, J. 499.
 Lenz, Fr. 187, 241, 242, 253.
 Léon, C. 248.
 Leonian, L. H. 41, 161.
 Lepeschkin, W. 23, 161.
 Lesh, J. B. 161.
 Leuschner, E. L. 167.
 Levi, G. 339, 350, 351, 354, 355, 356, 357, 366, 367, 369, 371, 372, 375, 376, 380, 383, 384, 385, 386, 387, 389, 392, 393, 394, 396, 397, 401, 405, 406, 407, 408, 409, 411, 412, 413, 419, 422, 425, 429, 430, 443, 445, 455, 499, 500.
 — Montalcini, R. 500.
 Lewis, M. R. 369, 380, 386, 387, 394, 421, 429, 450, 455, 457, 500, 501.
 — W. H. 337, 338, 340, 345, 346, 347, 349, 351, 363, 366, 369, 370, 371, 378, 380, 386, 387, 388, 393, 394, 395, 396, 421, 422, 423, 428, 429, 430, 432, 435, 436, 438, 439, 442, 443, 450, 455, 457, 465, 469, 483, 500, 501, 502.
 Lichtenstein, E. 500.
 Liebig, J. V. 45, 102, 161.
 Liebmann, H. 183, 192, 201, 254.
 Lieure 441.
 Lilly, V. G. 161.
 Lindbergh, Ch. 345, 348, 416, 469, 473, 489.
 Lindemann, V. F. 239, 254.
 Lindenberg, G. 65, 163.
 Lindner, P. 102, 161.
 Lindroth, A. 205, 254.
 Linossier, G. 20, 161.
 Lipmann, F. 86, 87, 88, 96, 161.
 Lipschütz, M. 86, 161, 162.
 Litvac, A. 385, 492, 502.
 Loeb, L. 457, 502.
 Löb, J. (Loeb) 198, 254.
 Löhr, H. 254.
 Lövinsohn, H. 236, 254.
 Löwen 102.
 Löwenstein, O. 187, 254.
 Loewenthal, H. 502.
 Lohmann, G. 13, 85, 86, 88, 162.
 Lohmann, K. 162.
 Lombart, A. 502.
 Lombroso, U. 223, 254.
 Long, J. H. 189, 254.
 Loomis, H. A. 276, 278, 291.
 Losee, J. R. 451, 502.
 Lovollay, J. 21, 161.
 Lubarsch, O. 502.
 Lucas, G. H. W. 103, 104, 162.
 Ludford, R. J. 425, 427, 438, 439, 502.
 Ludwig, F. W. 387, 468, 502.
 Lumiere, A. 18, 162.
 Luna 369.
 Lund, A. 141, 162.
 — J. 245.
 Lundbeck, J. 241, 242, 254.
 Lundgårdh, H. 175, 189, 254.
 Lutz, R. 207, 254.
 Lwoff, L. A. 6, 7, 9, 10, 11, 12, 32, 50, 51, 54, 61, 66, 67, 68, 70, 71, 76, 77, 79, 80, 81, 82, 96, 98, 99, 100, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 134, 138, 143, 144, 145, 151, 160, 162, 163.
 — M. 69, 70, 71, 76, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 134, 162.
 Lyle 490.
 Lyman, C. M. 106, 171, 172.
 Maas, O. 269, 287.
 MacCollum, E. V. 102, 170.
 Maconachie, J. E. 103, 163.
 Madden, R. J. 131, 157.
 Malmberg, M. J. 130, 157.
 Maloeuf, N. S. R. 210, 222, 238, 239, 254.
 Manery, F. 223, 254.
 Mangold, E. 198, 254, 338, 483.
 Maranayan 26.
 Marchand, F. 341, 378, 387, 388, 428, 430, 432, 453, 502.

- Maria, G. di 163.
 Marinesco, G. 397, 502, 503.
 Marshall, S. M. 284, 285, 290.
 Martini, E. 187, 254.
 Martinovitch, P. N. 342, 352, 397, 405, 409, 412, 413, 419, 442, 467, 503.
 Mason, E. 327, 335.
 Matsui, J. 503.
 Matsumoto, S. 362, 503.
 Matthai, G. 283, 290.
 Matthes, E. 293, 294, 304, 335.
 Matthews, A. 276, 290.
 Matula, J. 205, 254.
 Mauer, G. 439, 503.
 Maximow, A. 341, 342, 350, 352, 354, 370, 378, 385, 386, 388, 421, 422, 423, 425, 427, 428, 429, 440, 441, 504.
 Mayer, A. 188, 248, 250, 254.
 — A. G. 278, 279, 281, 283, 284, 290.
 Mayerson, H. S. 244.
 McBurney, C. H. 163, 172.
 McClendon, J. F. 273, 276, 279, 280, 281, 284, 290.
 McCoy 501.
 McCutcheon, F. H. 234, 235, 250, 254.
 McFarland, A. 254.
 McIlwain, H. 75, 76, 77, 79, 80, 81, 96, 133, 134, 160.
 McJunkin, F. A. 423, 502.
 McKinney, R. 385, 387 bis 389, 502.
 McMaster, Ph. 467, 503.
 McNair, G. T. 267, 287.
 McWhorter, J. E. 440, 502.
 Meier, R. 425, 512.
 Melin, E. 64, 163.
 Mendeleeff, P. 439, 504.
 Merker, E. 175, 187, 199, 255.
 Meyenburg, H. v. 157.
 Meyer, C. E. 108, 172.
 — E. 351, 355, 443, 462, 494, 503.
 — H. 206, 209, 239, 246, 255, 409, 411, 413, 419, 494, 499, 503.
 Michailow, V. P. 504.
 Mihálik, P. v. 360, 401, 402, 403, 405, 419, 420, 504.
 Mihalkovics, V. v. 296, 304, 335.
 Miller, L. 273, 289.
 — W. L. 109, 163.
 Milstein, T. 304, 335.
 Minder, L. 178, 255.
 Minea, I. 397, 502, 503, 504.
 Mirimanoff, A. 15, 121, 163.
 Miszurski, B. 504.
 Mitchell, H. K. 172.
 — J. R. 502.
 Mitis, H. v. 205, 255.
 Mitscherlich, E. 74, 163.
 Mitsuda, T. 504.
 Mockeridge, F. A. 5, 163.
 Mödlinger, G. 218, 221, 255.
 Moevus, F. 125, 163.
 Möllendorff, M. v. 505.
 — W. v. 339, 360, 366, 378, 384, 385, 386, 387, 388, 428, 430, 504, 505.
 Möller, E. F. 123, 163.
 Moldavskaja, A. 197, 255.
 Molliard, M. 192, 255.
 Momigliano, L. G. 385, 386, 387, 388, 505.
 Montalcini 385.
 Moore, B. 270, 287.
 Morgan, H. 222, 255.
 — Th. H. 338.
 Morita, J. 370, 490.
 Moser, F. 272, 273, 275, 290.
 — R. 171.
 — W. 19, 20, 40, 42, 68, 69, 70, 71, 106, 163, 169.
 Mosher, A. W. 117, 163.
 Mossa, S. 397, 405, 419, 505.
 Mounce 55.
 Mueller, J. Howard, 136, 137, 164.
 Müller, W. F. 64, 65, 66, 68, 69, 70, 71, 79, 83, 90, 149, 151, 164, 169.
 — W. H. 53, 164.
 — W. 164.
 Mühlmann 452.
 Muntz, E. 212, 255.
 Muratori, G. 341, 505.
 Murray, C. D. 251.
 — P. D. F. 505.
 Nägeli 12.
 Nagel, A. 505.
 Nageotte, J. 385, 386, 389, 505, 506.
 Naumann, E. 182, 241, 255.
 Neal, O. R. 170.
 Neipp, L. 13, 164.
 Nelson, D. 204, 208, 260.
 — V. E. 103, 158.
 Nicholas, J. S. 441, 467, 506.
 Nicholls, A. G. 283, 285, 286, 291.
 Nielsen, N. 15, 17, 18, 19, 20, 21, 31, 41, 104, 109, 110, 113, 115, 121, 138, 146, 158, 164.
 Niethammer, A. 74, 165.
 Nikitinsky, J. 17, 165.
 Nilsson, R. 52, 53, 154, 165.
 Nishibe, M. 506.
 Noble, G. 311, 315, 316, 318, 319, 322, 325, 326, 327, 335.
 Noecker, N. L. 68, 69, 70, 71, 165.
 Noguchi, M. 235, 255.
 O'Brien 75.
 Odake, S. 22, 170.
 Odiette, D. 389, 506, 511.
 Oesting, R. 244.
 Okkels, H. 473, 479, 506.
 Okulitch, O. 156.

- Okunuki, K. 90, 140, 165.
 Old, M. C. 269, 284, 288.
 Olivo, O. M. 357, 360, 370, 383, 385, 386, 387, 388, 394, 395, 396, 397, 405, 407, 408, 412, 419, 500, 506, 507.
 Olsen, O. 114, 126, 127, 165, 171.
 Olthoff, H. J. 205, 206, 213, 255.
 Omeliansky 201.
 Ondratscheck, K. 13, 165.
 O'Neil, D. 222, 255.
 Opitz, E. 245.
 Oppel, A. 507.
 Orla-Jensen, S. 16, 122, 123, 124, 165.
 Orr, A. P. 178, 204, 255, 290.
 — B. 255.
 — -Eving, J. 84, 147, 165, 166.
 Orth, H. 141, 165.
 Osborne, W. A. 212, 255.
 Otte, N. S. 165.
 Ozolinš, N. 226, 255.
 Palmhart, H. W. 282, 290.
 Pannett, 441.
 Pantin, A. 227, 228, 255.
 Paauw, F. van der 230, 231, 248.
 Papacostas, G. 165.
 Pappenheimer, A. M. 135, 165.
 Parker, G. H. 264, 265, 267, 288.
 — R. C. 382, 383, 391, 455, 507.
 Parsons, R. J. 467, 503.
 Pasteur, L. 6, 45, 102, 165, 166.
 Patrasçanu, M. 225, 255.
 Pause, J. 198, 225, 227, 255.
 Pax, F. 273, 277, 283, 290.
 Pearlman, S. 293, 335.
 Pearse, S. 174, 201, 211, 255.
 Perlmann, G. 161.
 Peskett, G. 6, 166.
 Peter, K. 375, 445, 449, 451, 507.
 Péterfi, T. 360, 507, 508.
 Peters, Fr. 187, 205, 206, 255, 258.
 — H. 256.
 — R. A. 22, 23, 75, 83, 84, 88, 159, 166.
 Peterson, W. H. 51, 68, 69, 70, 71, 121, 137, 170, 172.
 Petrik, J. M. 207, 256, 276, 279, 282, 290.
 Pettenkofer, M. von 175, 256.
 Pfeiffer, R. 125, 126, 166.
 Pflüger 237.
 Philipson, T. 115, 120, 157, 166.
 Philipp, P. 198, 256.
 Piana, G. 295, 335.
 Pieh, S. 188, 256.
 Piéron, H. 178, 207, 256, 276, 277, 278, 290.
 Pierret 411.
 Pinkus, H. 370, 508.
 Pirotsky, J. 127, 163.
 Pirschle, K. 13, 166.
 Plantefol, L. 188, 248, 256.
 Pockrandt, D. 222, 256.
 Pole, A. K. 167.
 Poleff, L. 369, 370, 508.
 Policard, A. 355, 360, 362, 366, 370, 390, 391, 392, 427, 433, 436, 438, 439, 460, 508.
 Popoff, N. 508.
 Porta, A. 368, 383, 386, 389, 508.
 Posern, E. 425, 512.
 Postma, N. 222, 248.
 Potter, V. R. 86, 161, 162.
 Powers, E. B. 233, 256.
 Pramanik, B. 117, 155.
 Precht, H. 198, 211, 256.
 Pries-Soares, J. 508.
 Pringsheim, E. G. 54, 74, 151, 166, 200, 256.
 Probst, G. 231, 256.
 Prüffer, J. 192, 256.
 Pulikovsky, N. 221, 256.
 Pütter, A. 195, 256, 263, 265, 268, 269, 270, 271, 281, 284, 288, 290, 342, 345, 452.
 Quastel, H. 192, 256.
 Quatrefages, A. de 273, 290.
 Querido, A. 134, 163.
 Raben, K. von 219, 221, 256.
 Rabl, C. 354, 355, 363, 364, 375, 431, 432, 433, 449.
 Raffy, A. 121, 158, 163, 166, 187, 209, 219, 239, 248, 256.
 Rahm, G. 190, 256.
 Rahn, O. 124, 166.
 Randoin, L. 6, 166.
 Ranke 384, 390.
 Ranker, E. R. 50, 166.
 Rasmussen 425, 426.
 Raulin, J. 6, 12, 17, 166.
 Rawidowicz, K. 497.
 Reader, V. 23, 84, 106, 147, 165, 166.
 Redfield, A. C. 227, 228, 229, 233, 234, 236, 248, 249, 256, 257.
 Reid, D. M. 214, 247.
 Remane, E. 186, 187, 257.
 Rényi, G. S. de 360, 396, 497, 508.
 Resühr, B. 166.
 Retzius, G. 306, 335.
 Reuss, H. 212, 257.
 Reuter, L. 104, 166.
 Ribbert 375, 459.
 Richard, J. 273, 291.
 Richards, O. W. 12, 167.
 Richardson, G. M. 97, 135, 136, 157, 160, 166.
 — L. R. 167.
 Richet 192.
 Richter, Ch. 237, 257.
 — R. 257.
 Rienhoff, W. 370, 444, 508.

- Riess 384.
Rippel, A. 14, 15, 103, 104, 167.
— K. 104, 167.
Rivers, T. M. 125, 126, 150, 167, 171.
Robb-Smith, A. H. T. 508.
Robbins, W. J. 34, 38, 39, 42, 61, 64, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 76, 77, 79, 80, 81, 83, 90, 91, 92, 97, 98, 167.
Robcynieks 157.
Robertson 440.
Robinow, C. 359, 360, 363, 438, 508.
Robinson, R. 442, 493.
Roch, F. 186, 257, 278, 290.
Roche, J. 257.
Rode, P. 195, 257.
Roehm, R. R. 171.
Rössle, R. 337, 452, 508.
Rohr, G. v. 192, 204, 246.
Rohrmann, E. 108, 171, 172.
Romanes 275.
Romeis 347.
Ronsdorff, L. 21, 167.
Root, R. W. 233, 234, 257.
Rosenthaler 44.
Roule 202.
Roulet, Fr. 385, 386, 491, 509.
Rous, P. 357, 450, 457, 464, 509.
Roux, W. 338, 483.
Rudničk, D. 441, 506.
Ruehle, A. E. 60, 156.
Ruhkopf, H. 172.
Rumjantzew, A. 509.
Russel, S. 186, 257.
Ruter, G. 200, 257.
Ruttner, Fr. 178, 179, 182, 184, 185, 246, 257.
Ruzicka 452.
Rylow, M. 196, 257.
Rytz, W. jr. 16, 169.
Sabin, F. 427, 429, 430, 432, 440, 509.
Sacerdote, E. 373, 385, 500.
Saito 140.
Sakurai, K. 84, 167.
Sandstrom, Ruth H. 486.
Sannié, Ch. 511.
Saunders, F. 6, 16, 110, 119, 132, 134, 156, 160.
— D. H. 163, 171.
Saunderson 108.
Schade 452.
Schaffer 454.
Schaffstein, G. 149, 167.
Schäperclaus, W. 229, 233, 257.
Scheer, D. 227, 229, 257.
Scheunert, A. 21, 53, 167.
Scheuring, L. 201, 202, 226, 249, 257, 283.
Schieblich, M. 21, 53, 167, 168.
Schlenk, F. 130, 157, 168.
Schlicher, J. 237, 257.
Schlieper, C. 187, 188, 197, 206, 257, 258.
Schloesing, Th. 273, 291.
Schmidt, C. S. 215, 223, 247.
— U. 258.
Schminke, G. 497.
Schmitt, W. 258.
Schmitz, H. 55, 168.
Schneider, W. 242, 258.
Schoedel, W. 245.
Schróder, K. 268, 288.
Schöttle, E. 216, 220, 221, 258.
Schopfer, William H. 1, 7, 10, 11, 16, 17, 19, 20, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 30, 31, 32, 33, 35, 36, 38, 39, 40, 45, 46, 47, 48, 59, 61, 63, 64, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 76, 77, 79, 80, 81, 82, 83, 85, 88, 89, 91, 92, 93, 94, 95, 120, 121, 123, 124, 125, 149, 151, 159, 168, 169, 497, 509.
Schreiber, H. 384.
Schultz, A. S. 111, 116, 169.
— F. 172.
Schulz, Br. 185, 258.
Schuster, Ph. 85, 162.
Schwabe, E. 188, 258.
Schwartz, W. 169.
Schwarz, B. 230, 252.
Scott, W. J. 125, 244.
Segaar, J. 205, 206, 258.
Sehon, L. 207, 260.
Seifert, R. 199, 258.
Seitz 55.
Seiwell, R. 185, 258.
Semper 345.
Sergent, A. L. 6, 169.
Seulberger 453.
Seydel, O. 296, 303, 335.
Sgonina, K. 200, 258.
Shelford, E. 201, 233, 258.
Shinamura 22, 170.
Shoup, C. S. 282, 291.
Siedentopf, W. 211, 258.
Silberberg, M. 509.
Simmonds, B. G. 185, 187, 195, 206, 249.
Simonnet, H. 6, 166.
Sinclair, H. M. 61, 76, 77, 79, 81, 83, 160, 166.
Skramlik, E. v. 215, 258.
Slater, W. K. 189, 191, 194, 232, 247, 258.
Smith 369.
— D. H. 204, 217, 258.
— H. W. 258.
Snell, E. C. 121, 123, 137, 170.
— E. E. 170.
Snessarew 384.
Snog-Kjaer, Agnete 122, 165.
— Otto 122.
Sonehara, S. H. 211, 258.
Solandt, M. 252.
— Y. 252.
Souza, G. de P. 102, 170.
Spadafina, L. 509.
Speidel 341.
Spemann, H. 338, 341, 483, 509.
Spielmeyer 413.
Spies, T. D. 83, 85, 166, 172.
Ssipowsky 370.
Stahl, E. 258.
Stahn, J. 192, 204, 205, 208, 258.
Stanley, W. M. 142, 170.

- Stantiae 108, 109.
 Starling 465.
 Stedman, Edg. 258.
 — El. 228, 258.
 Steenbock, H. 125, 159.
 Steinach 451.
 Steinberg, R. A. 12, 13,
 18, 42, 170.
 Stephensen, M. 178, 192,
 214, 256.
 Stephenson, A. 258.
 — T. A. 284, 291.
 Stern, K. G. 170.
 Stevens, J. R. 123, 159.
 Stevenson, H. C. 102,
 156.
 Stier, E. B. 206, 247.
 Stockard, Ch. R. 451,
 509.
 Stocker, O. 188, 258.
 Stocking-Lynch 370.
 Strangeways, T. S. 390,
 391, 422, 440, 509,
 510.
 Strelin 370.
 Strong, F. M. 123, 132,
 157, 170.
 Strouhal, H. 190, 258.
 Stubblefield, K. J. 251.
 Studitsky, A. N. 390,
 392, 510.
 Subbarow, Y. 136, 164.
 Sudzuki, M. 236, 259.
 Sünderlin, F. 50, 53, 170.
 Suzuki, T. 22, 170, 487.
 Swindle, F. 223, 259.
 Szantroch, Z. 369, 370,
 393, 419, 510.
 Szejnman, A. M. 512.
- Tait, J. 215, 221, 259.
 Tang, P. 238, 259.
 Tannenber, J. 510.
 Tarusoff, B. 187, 188,
 259.
 Tatum, E. L. 51, 68, 69,
 70, 71, 121, 137, 170,
 172.
 Tauber, H. 86, 170.
 Tchang, J. L. 64, 71, 98,
 125, 157, 170.
 Teindl-Czech, L. 104,
 170.
- Teissier, G. 492.
 Terni, T. 459, 480.
 Thiel, M. E. 273, 283,
 286, 291.
 Thienemann, A. 177, 178,
 179, 180, 181, 182,
 183, 185, 186, 187,
 190, 195, 226, 227,
 241, 242, 259.
 Thill, H. 273, 275, 277,
 279, 280, 281, 282,
 291.
 Thimann, K. V. 18, 170,
 171.
 Thinke, M. A. 160.
 Thjötta, Th. 126, 129,
 170.
 Thomas, A. 337, 347,
 366, 367, 368, 369,
 371, 373, 384, 388,
 430, 432, 443, 465,
 510.
 — J. B. 192, 231, 240,
 259.
 Thomson, D. 342, 352,
 435, 440, 510.
 Thorne, D. W. 52, 170.
 Thorpe, W. H. 195, 196,
 200, 221, 222, 259.
 Thren, R. 50, 170.
 Thunberg, Th. 128, 129,
 131, 237, 240, 259.
 Tiemann, Fr. 226, 259.
 Timofejewsky, A. D. 421,
 422, 484, 510, 511.
 Tincker, M. A. H. 170.
 Tischler, O. H. 188, 193,
 224.
 Todd, A. R. 23, 154, 171.
 Tönnis, B. 12, 103, 106,
 107, 160.
 Törö, E. 369, 442, 511.
 Trendelenburg, W. 276,
 279, 281, 284, 285,
 286, 291.
 Trigt, H. van 215, 259,
 264, 265, 267, 268,
 288.
 Truhaut, R. 506.
 Trusdail, J. H. 106, 171,
 172.
 Tschassownikow, N. 511.
 Tschesche, R. 172.
 Twort, F. W. 11, 171.
- Uhlenhuth, E. 366, 396,
 511.
 Underkofler, L. A. 161.
 Utermöhle, H. 196, 201,
 259.
- Vacek, Th. 226, 259.
 Valentine, F. C. O. 126,
 171.
 Vaughan, T. W. 291.
 Vearyl 451.
 Verne, J. 351, 370, 397,
 417, 419, 420, 511.
 — -Soubiran, A. 511.
 Vernon, H. M. 280, 281,
 282, 291.
 Veratti, E. 421, 422, 423,
 429, 435, 438, 511.
 Verwey, J. 213, 221, 260,
 284, 285, 291.
 Verworn, M. 200, 260,
 344.
 Vestin, R. 86, 157.
 Vincent, S. W. 224, 260.
 Virchow 341, 454.
 Vogel, R. 187, 260.
 Vogt, W. 338, 340, 341,
 446, 447, 448, 449,
 483, 484, 511.
 Volkonsky, M. 50, 171.
 Voronoff 451.
 Voss, H. J. 206, 260.
- Waddington, C. H. 440,
 512.
 Wagner-Jauregg, Th.
 160.
 Wagtendonck, W. J. van
 116, 144, 160, 171.
 Walker, R. H. 53, 170.
 Wallbach, G. 512.
 Wallengren, H. 198, 207,
 213, 219, 260.
 Walls, G. 329, 335.
 Walter, H. 188, 260.
 Wang, L. Sh. 187, 260.
 Warburg, O. 87, 121, 128,
 129, 130, 131, 134,
 142, 159, 171, 238,
 260, 438.
 Washbourn, R. 195, 249,
 260.
 Wassink, E. C. 26, 171.

- Wastl, H. 228, 230, 236, 260.
 Waterman, R. E. 60, 156, 172.
 Watson 204, 255.
 Weber, A. P. 140, 171.
 — H. 207, 260.
 Webster 423.
 Weigmann, R. 190, 260.
 Weimann, R. 183, 260.
 Weinstock, H. H. jr. 172.
 Weise, W. 189, 194, 245.
 Weiss, P. 345, 448, 512.
 Weitzmann, G. 422, 425, 435, 512.
 Welch, P. S. 207, 254, 260, 276, 287, 291.
 Wells, A. Q. 512.
 Welsh, M. F. 214, 260.
 Wendt, G. 123, 160.
 Went, F. W. 171.
 Werkman, C. H. 15, 50, 53, 158, 170, 172.
 Wermel, E. 355, 356, 512.
 Werner, A. R. 51, 171.
 Wesenberg-Lund, C. 180, 246.
 West, P. M. 52, 171.
 Westenbrink, H. G. K. 86, 158.
 Westphal, K. 23, 93, 154.
 Wetzel, A. 192, 260.
 Whipple, A. O. 440, 502.
 Whitley, E. 287.
 Widmark 273.
 Wiedemann, E. 311, 313, 327, 335.
 Wieland 128, 131.
 Wierszinsky, A. 392, 422, 512.
 Wiese, A. 201, 260.
 Wigglesworth, V. B. 187, 200, 204, 207, 210, 214, 221, 222, 260.
 Wilde, W. 3, 311, 315, 318, 320, 321, 322, 324, 328, 335.
 Wildiers, E. 5, 45, 102, 103, 108, 112, 115, 156, 163, 171.
 Wilhelmi 278, 291.
 Willaman, J. 114, 171.
 Willem, V. 217, 260.
 Willer, A. 178, 260.
 Williams, A. L. 158.
 — R. J. 7, 15, 23, 83, 85, 102, 106, 108, 110, 113, 119, 163, 171, 172.
 — R. R. 23, 60, 93, 103, 155, 156, 172.
 — St. 507.
 Williamson 245.
 Willmer, E. N. 205, 233, 260, 493, 512.
 Wilson, E. B. 277, 291.
 — P. W. 52, 171.
 Windaus, A. 23, 172.
 Windle, W. F. 204, 208, 261.
 Wingfield, C. A. 206, 239, 249, 261.
 Winkler 184, 269.
 Winterstein, A. 6, 172.
 — H. 174, 198, 200, 202, 205, 206, 209, 210, 211, 216, 261, 272, 273, 275, 277, 279, 281, 283, 291.
 Wislocki, B. 223, 261.
 Wit, F. 219, 261.
 Witte, G. 512.
 Wojciechowski, A. 512.
 Wolf, E. 370, 502, 512.
 Wolterreck, R. 272, 291.
 Wolvekamp, H. P. 227, 228, 230, 261.
 Wood, A. J. 51, 68, 69, 70, 71, 116, 137, 156, 170.
 — H. G. 172.
 Wooley, D. W. 157.
 Worley, Clair, L. 21, 172.
 Wrede 223, 261.
 Wunder, W. 200, 214, 242, 243, 261.
 Wylie, S. M. 155.
 Yamaguchi, M. 512.
 Yonge, C. M. 273, 274, 276, 278, 280, 282, 283, 284, 285, 286, 287, 291.
 Young 102, 129.
 Ysseling, M. A. 204, 206, 208, 219, 261.
 Zaeper, G. 203, 261.
 Zambelli 370.
 Zeller 55.
 Zenkes 408, 418.
 Zimmermann, A. 512.
 Zondek, B. 370, 512.
 Zoond, A. 178, 251, 258, 261, 291.
 Zuntz, N. 261.
 Zweibaum, J. 423, 512.
 Zycha, H. 41, 172, 196, 261.
 Zymbal, W. E. 512.

Sachverzeichnis.

Die *kursiv* gesetzten Zahlen beziehen sich auf die Seitenzahlen
von *Abbildungen*.

- | | | |
|---|--|---|
| <p>Abramis brama 242.
Absidia coerulea 37, 68, 141.
— glauca 37, 38, 68, 74, 120.
— oechidis 37, 38, 68, 96, 120.
— ramosa 18, 37, 38, 64, 67, 68, 91.
— repens 37, 38, 68.
Acanthamoeba castellani 71.
Acanthodactylus scutellatus 316, 317, 318, 330, 331.
Acerina cernua 242.
Acrophora 278.
Acropora hebes 284.
Actinaria 273, 274, 283.
Actinia bermudensis 278, 284.
— equina 277, 278, 279.
Actinien 207, 239, 271, 277.
Actinothoe anguicornis 278.
Adenin 136.
Adermin 123.
Adipinsäure 136.
Adonit 105.
Adrenalin 140, 299, 457, 477.
Adventitialzellen 432.
Aedes-Larven 186.
Aerotaxis 277.
Aesche 242.
Aeschna-Larven 198, 207, 208, 212, 219.
Agalma 272.
Agar-Agar 15f., 457.
Agkistrodon contortrix 318.
Ahorn 55.
Aiptasia diaphana 284.
Alanin 52, 58, 108f, 117., 137, 146f.
Alanylglycin 109.</p> | <p>Albumin 137.
Alburnus lucidus 242.
Alcyonaria 274, 276, 281, 283, 284, 286.
Algen 283.
Alkohol 13, 15, 23, 57, 129.
Allocholesterol 138.
Alma 221.
Amblystoma 210.
Ambulakralsystem 206.
Ameiva exsul 316.
— surinamensis 316.
Amia 217.
Aminosäure 9, 51, 58, 108f., 147, 461, 462.
Amitose 439.
Ammoniak 9.
Ammoniumazetat 54.
Ammoniumsalz 9.
Ammoniumsulfat 51.
Ammoniumtetratrat 18.
Amylalkohol 53.
Amphibien 206, 211, 218, 222, 234, 235, 293.
Amphibionten 192.
Amphipnous 217.
Amphipoden 186, 213.
Anabas 217.
Anadonta 209, 225, 237.
Anaerobier 191.
Anaerobiose 133, 136, 184.
Anästomosen 401, 402, 403f.
Anax 210.
Ancistrus 217.
Androsteron 140.
Anemonia sulcata 239, 277, 279, 281, 284.
Aneurin 5f.
Anguiden 316.
Anguis fragilis, JACOBSONSCHES Organ 306, 308, 309.
Anilinblau 372, 387.
Anilocra 203.</p> | <p>Anneliden 119, 184, 208.
Anoxybiose 278.
Anthea 284.
Antheren 42.
Anthozoen 273, 274, 276.
Antipatharia 274.
Antipellagrakomplex 131.
Antuitrin 457, 477.
Apfelsäure 20, 129.
Aplysina aerophoba 263, 269.
Apnoe 205.
Apozymasen 130.
Apus 227.
Arabit 105.
Arachnoideen 177.
Arapaima 217.
Archusia 454.
Arenicola 209, 227, 229, 230.
Arenicolor marina 207.
Arginin 58, 146.
Arion 198, 206.
Arthropoden 195.
Ascaris 193, 194, 240.
Ascidien 208.
Ascomyceten 21, 59f., 116.
Ascorbinsäure 14, 49, 124f., 456.
Asellus 195, 205, 213.
Asparagin 9, 13, 32f., 98, 129, 146.
Asparaginsäure 108, 113.
Aspergillus 12f.
— niger 8, 17f., 69, 99, 141.
— — Aneuringehalt des Mycels 22.
— — Wachstum auf Bierwürze 15.
— oryzae 84.
Asphyxie 192.
Aspidosiphon 278.
Asseln 187.
Astacin 125.</p> |
|---|--|---|

- Astacus fluviatilis* 205.
Asterias ruber 206.
 Äther 15, 23, 57, 112.
 Äthylalkohol 129.
 Atmung der Schwämme und Coelenteraten 262f.
 — Sauerstoffverbrauch einiger Coelenteraten Tabelle 281.
 Ätzkalk 233.
Aurelia aurita 273, 275, 277, 279, 281, 282.
Autobasidiomycetes 42f., 70.
 Autolyse 453.
 Autotrophie 10.
Auximone 5.
Auxin 17f., 139f.
Avena-Koleoptil 18, 21, 139f.
 Avitaminose 149.
Axolotl 211, 239.
 Azan 372.
 Azelainsäure 136.
 Azellulare Organismen 23.
 Azetaldehyd 85.
Azetobacter 13, 51, 151.
 Azeton 137.
 Azetonextrakt 51.
 Azoformol 83.
- Bachforelle 242.
Bacillus acetylcholini 123.
 — *botulinus* 135.
 — *Delbrückii* 87, 88, 121, 124.
 — *tetani* 14.
 BACHSche Flasche 31.
Bacterium adhaerens 50.
 — *auxinophilum* 139.
 — *bifidum* 122.
 — *coli* 50.
 — *fluorescens liquefaciens* 122.
 — *influenzae* 126.
 — *lactis aerogenes* 50.
 — *mesentericus* 50.
 — *moelleri* 50.
 — *mycoides* 50.
 — *proteus* 132, 134.
 — *pyocyaneum* 122.
- Bacterium smegmatis* 50.
 — *sporogenes* 135, 136, 192.
 — *subtilis* 50.
 — *timothy* 50.
 — *vulgatus* 50.
Baetis 195.
Bagous subcarinatus 200
 Bakterien 5f., 116f., 179, 268.
Balanus balanoides 203.
 Bandwurm 193.
 Barbe 242.
 Bariumazetat 129.
 Barsch 202.
 Basalmembran 371f.
Basidiobolus ranarum 69.
Basidiomycetes 60, 67, 69.
Beggiatoa 200, 201.
 BEJERINCKSche Atmungsfürung 200.
 Benzanthrazen 439.
 Benzpyren 439.
 Beri-beri 22.
 Bernsteinsäure 129, 130, 135, 136.
Beroe ovata 281.
Betacoccus cremoris 116.
 Bilirubin 126.
 Bios 5f.
 Bioosterol 112.
 Biotin 26f., 107.
Birgus 218, 219.
Blastothrix 221.
 Bleiazetat 103, 113, 129.
 Bleie 242.
Blicca byörkna 242.
 Blutegel 191.
Bodo sulcatus 195.
Brachyuren 221.
 Brandpilze 42f.
 Brenztraubensäure 20, 85, 129, 146.
 Buttersäurebakterien 121.
Bythia 190.
- Calappa granulata* 209.
 Calciferol 112, 113.
 Calciumchlorid 463f.
 Calcium 475.
 Caliphora-Larven 230.
- Cambarus* 210.
Camellia 151.
Canis familiaris 298.
Carassius auratus 206, 215.
 — *vulgaris* 243.
Carcinus maenas 188, 203.
Carmarina 275.
 — *hastata* 281, 282.
 Carotin 124f., 151.
 Caryphyllaceen 44.
Cassiopea 276.
 — *xamachana* 279, 280, 281.
Cavia cobaya 298, 299, 301.
 — — STENSONSche Gänge 301.
 Cephalopoden 205.
Cercospora herpochryoides 72.
Cestodon 240.
Cestus veneris 281.
Chaetocladium 151.
 — *Brefeldi* 37, 69.
Chamaeleolis chamaeliontides 330.
 Chamäleon 305, 316.
Chilomonas paramaecium 67, 71, 77, 79, 80.
Chirocephalus 203.
 Chironomiden 191.
Chironomus 227.
 — *gregarius* 198.
 — -Larven 186, 187, 190, 230, 231, 232, 240, 241.
 — *Liebeli-batophilus* 242.
 — *plumosus* 242.
 — -*Seen* 241.
 — *Tummii* 231.
 Chiropteren 293.
Chlamydomonas eugametos 125.
Chloeon dipterum 241.
 — -Larven 240.
Chloephaga 236.
Chlorella 124.
 Chlorhämiden 228.
 Chlorbakterien 196, 200.
Chlorococcum 51.
 Chlorocruorin 228.

- Chloroform 23, 64, 84, 112.
 Chlorohydra 238, 286.
 — viridissima 199, 285.
 Chlorophyll 126.
 Choanephora cucurbitarum 37, 69.
 — persicaria 37, 69.
 Cholestanol 138.
 Cholesterol 124, 137.
 Colinchlorhydrat 137f.
 Chondriosome 439.
 Chondrophoren 272, 273, 283.
 Chondrosia reniformis 263, 267, 269.
 Chondrostoma nasus 242.
 Ciliaten 71, 184, 191, 193.
 Cinchol 138.
 Circinella aspera 38, 68.
 Cirripeden 191.
 Clarias 217.
 Cloëon 195, 239.
 — dipterium 206.
 — multicornis 283.
 Clostridium butyricum 120.
 Codehydrasen 129f.
 Coelenteraten 237, 271f.
 Coelopeltis monspessulana 313.
 Coenzym 52, 87.
 Coleopteren 207.
 Colpidium colpoda 192.
 Coluber longissimus 313, 328.
 Colubridae 313.
 Copepoden 191.
 Cophotis ceylanica 330.
 Cordylophora caspia 278.
 — lacustris 186.
 Coregonen 242.
 Coregonus lavaretus 201.
 Corethra-Larven 184, 191, 195, 213.
 — Plumicornis 242.
 — Seen 241.
 Corixa 199, 207.
 Coronella austriaca 313, 328.
 Corynebacterium diptheriae 136, 137, 141.
 Cottus gobio 242.
 — poecilopus 242.
 Cozymase 102.
 Crotalus horridus 313.
 Crozin 125.
 Crustaceen 184, 205, 207, 208, 219, 237.
 Cryptochrysidaceen 283.
 Cryptomonaden 283.
 Cryptoxantin 125.
 Crystalline 475.
 Ctenophoren 274, 281, 282.
 Cucumaria elongata 227.
 — saxicola 227.
 Culex-Larven 187.
 Culiciden-Larven 186.
 Cunninghamella echinulata 37, 69.
 — elegans 37, 89.
 Cuscuta 25.
 Cyanea capillata 273.
 Cyanophyceen 196, 200.
 Cyphastrea 278.
 Cyprinus carpio 243.
 Cystein 463f., 475.
 Cystin 136.
 Cytochrom 127.
 Cytosin 136.
 Daedalea unicolor 57, 58, 70, 99.
 Dacryomyces stillatus 59, 70.
 Darmmukosaepithelien 442.
 Darmparasiten 189.
 Darmsymbionten 147.
 Decapoden 218, 219.
 Dematium nigrum 64, 67, 70, 73, 80, 83.
 Dendriten 413.
 Dendrophyllia 285.
 Detritus 441.
 Deuterohämin 127.
 Deuteroporphyrin 127.
 Diadumene luciae 278.
 Diatomeen 124.
 Dibenzanthrazen 439.
 Dichtsaatmycelien 55.
 Dicranophora fulva 37, 69, 88, 151.
 Didiamesa miriforceps 242.
 Diphylobothrium 193.
 Dihydroergosterol 138.
 Dihydrofollikulin 140.
 Dixippus 192, 193, 208.
 Donacia 200.
 Dotterendodermmembran 368.
 Dottersynzytium des Hühnerembryos 367.
 Drilocrius 221.
 Drosophila-Larven 148.
 — melanogaster 148.
 Dryophis 329.
 — mycterizans, JACOBSONSches Organ 332.
 Dulcitol 105.
 Dytiscus-Larven 207.
 Echinodermen 198, 237.
 Eichhörnchen 296.
 Eisen 228.
 Eiweiß 462.
 Electrophorus electricus 217.
 Elektivmethode 401.
 Eleutheria dichotoma 279.
 Eluat 122.
 Elmsis 200.
 Embryonalzelle, Schema 355.
 Emydosauria 305.
 Encyrtus 221.
 Ente 223.
 Entenlunge 208.
 Ephemeria-Larven 240, 241.
 Ephemeria vulgaris 241.
 Ephemeriden-Larven 206, 224.
 Ephydatia fluviatilis 265, 267, 269.
 Equilenin 138.
 Equilin 138.
 Equus caballus 298.
 Eremothecium Ashbyii 121.
 Ergosterol 112f., 137f.
 Eriochair 187, 218.
 — chinensis 188, 213.
 Erysiphaceen 153.
 Erythrirus 217, 220, 225.
 Eschatin 457.
 Esox lucius 242.
 Euascomycetes 69.

- Eudendrium capillare 286.
 Eudorina 179.
 Eumeces laticeps 327.
 Eurybarische Organismen 176.
 Eutrichomonas colubrorum 138.
 Evertebraten 204, 239.
 Explantation „in vitro“ 366f.
 — — — Anastomosen 360f., 401f.
 — — — Apothel 354f
 — — — Bindegewebe 369f., 373.
 — — — Bindegewebskultur 366.
 — — — Blutzellen 420f.
 — — — Desmone 361.
 — — — Dotterentodermkultur 366, 430f.
 — — — embryonale Herzspitzen 453.
 — — — „Entmischung“ der kolloiden Substanz 451.
 — — — Epithel 354f.
 — — — epitheliale Gewebe 362f.
 — — — Epithelkultur 364, 365.
 — — — Explantationen von Organen 478f.
 — — — Exsudatzellen 422.
 — — — Fibroblastenkultur 366, 359, 360.
 — — — „Gewebs-hunger“ 453.
 — — — Herzexplantate 401.
 — — — Hühnerembryo 441.
 — — — Hühnchenembryonalmilzkulturen 425.
 — — — Kaltblüterembryonalteile 440f.
 — — — Karzinome 433f.
 Explantation „in vitro“ Kieselgurgranulome, Sarkome 433f.
 — — — Kieselgurgranulomkultur 424, 426, 430, 434, 435, 437.
 — — — Knochen und Knorpelimplantate 390.
 — — — Knochenmarkkulturen 425.
 — — — Leberkulturen 368.
 — — — leukämisches Blut 422.
 — — — Lymphknoten, Milz 423.
 — — — Meroamitose 367, 368.
 — — — Milzkulturen 423, 424, 461.
 — — — Mitosen 366f.
 — — — Muskelgewebe 393f.
 — — — Myofibrillen 395f.
 — — — Nährboden, verschiedene Lösungen 454f., 455f.
 — — — Nährböden, künstliche 462.
 — — — Nervengewebe 396, 398, 399.
 — — — Nervenkultur, Vorderhirn von Hühnerembryo 403, 404.
 — — — Neuriten 405.
 — — — Neuroepithelkultur 410, 411, 412, 414.
 — — — Organexplantation 465f.
 — — — Plasma und Serum 457f.
 — — — Residualenergie 455.
 — — — Säugerembryo 441.
 — — — Schema einer epithelialen Embryonalzelle 355.
 — — — Schilddrüsenimplantat 477, 479.
 Explantation „in vitro“ Verschiedene Kulturen 369.
 — — — Wachstumsfördernde Substanzen 460f.
 Exsudation 453.
 Faktor V 129f.
 Fasciola hepatica 189, 240.
 Favia 278.
 Fiber Zibethicus 303.
 — JACOBSONSches Organ und STENSONSche Gänge 303.
 Fibrin 458.
 Fibroblasten 369, 384, 400f., 418, 449.
 — aus dem Kopfmesenchym eines Hühnerembryos 374, 377.
 — des erwachsenen Meerschweinchens 379, 381.
 Fibroblastenkultur 382, 383.
 Fibrozyten 369.
 Filtrierpapierasche 19.
 Fische 193, 195, 200f., 211f., 232, 233, 237.
 Flagellaten 54, 187, 193, 195, 200.
 Flechten 188.
 Fleischextrakt 131.
 FLEXNER-JOBLING-Karzinom 436.
 Flußkrebis 213.
 Follikelhormon 140.
 Follikulum 140.
 Fomes igniarius 70.
 — pinicola 55, 57, 70.
 Forelle 209, 232, 233.
 Formol 458.
 Forskalia 272.
 Frosch 215, 225, 280.
 Froschblut 235.
 Fullererde 23.
 Fumarsäure 20, 129.
 Fundulus 210.
 Fungia 278.
 Fungi imperfecti 70.
 Fusarium conglutinans 69.

- Galaxea 278.
 Galle 137.
 Gammerus 187, 205.
 Gastropoden 219.
 Gecarciniden 219, 221.
 Gelatine 16.
 Gelatinenährboden 131.
 Geotaxis 198.
 Gewebsasphyxie 453.
 Glaucoma 7, 76, 77, 92.
 — piriformis 54 66, 71, 95, 96, 97, 100.
 Gliä 414f.
 Glioblasten 420.
 Glioneurozyten 409f.
 Glukose 9, 98, 129, 456, 463, 473, 475.
 Glutaminsäure 110, 146.
 Glutarsäure 136.
 Gluthation 52, 456, 463f., 475.
 Glycerolparaginsäure 109.
 Glykolsäure 146.
 Glykolyse 85.
 Glyoxalsäure 20.
 Glyptosternum 225.
 Glycerin 11, 44, 52, 100, 457, 477.
 Glycerol 125.
 Glycerophosphate 477.
 Gobia fluviatilis 242.
 Gobiiden 217.
 Gorgonaria 274, 276, 283, 286.
 Grantia compressa 264, 270.
 Grapsiden 221.
 Guanin 136.
 Gymnotus electricus 217.
 Gymnozoma 200.
- Haferkoleoptile 18.
 Halacariden 225.
 Halichondria panicea 265.
 Haliclona longleyi 269.
 — rubens 269.
 Hämatin 54, 71, 126f., 142, 146.
 Hämatohämin 127.
 Hämatoporphyrin 126, 127.
 Hämerythrin 228.
- Hämin 456, 463f., 475.
 Hämoglobin 194, 205, 209, 223, 226, 227, 441, 473.
 Hämozyanin 126, 228, 233.
 Haemophilus canis 127, 128, 141, 150.
 — conjunctivitis 127.
 — ducreyi 127.
 — influenzae 125, 127, 141.
 — parainfluenzae 129, 130, 131, 141, 150.
 Hantzschia 51.
 Hansenula anomala 140.
 — saturnus 140.
 Harnzoen 454.
 Harnstoff 457.
 Hefe 5f., 22, 51f., 102f., 125, 131, 140.
 Hefewuchsstoff 8.
 Helix 188, 190, 206, 208.
 Helodea canadensis 188.
 Heloderma 316.
 Helvella infula 59, 69, 99, 119.
 Heteroauxin 139, 140.
 Heteromeyenia baileyi 268.
 Heteropsammia cochlea 278.
 Heterotrophie 10, 11, 87, 98, 119.
 Hexactinelliden 266.
 Hexosemonophosphat 130.
 Hiacinia 263.
 Hippospongia equina 269.
 Hirudineen 213.
 Hirudo 227.
 Hissche Neuroblastentheorie 405.
 Histozyten 432.
 Histozytenbildung 367.
 Holobasidiomyceten 54.
 Holothurien 198, 206, 212.
 Homiothermen 467.
 Hormon 115, 139f., 361, 467, 479.
 Hornkorallen 281.
 Hopleythrinus 217.
- Hoplosternum litorale 216, 217.
 Huhn, Eifollikel 114, 223.
 Humusdekokten 54.
 Hund 189.
 Hyalella 213.
 Hyas aranea 188.
 Hydnum erinaceum 70.
 Hydra 197, 198, 271, 273, 275, 276, 284, 285.
 — attenuata 278.
 — oligactis 278.
 — vulgaris 278.
 Hydracarinen 186, 225.
 Hydrocampa-Larven 200, 214.
 Hydrochoerus capybara, JACOBSONSches Organ 297.
 Hydrorhiza 272.
 Hydrosulfit 87.
 Hydrozoen 186, 214, 271, 273, 282.
 Hymeniacion caruncula 269.
 Hyperämie 453.
 Hypopomus 217.
 Hypostomus 217.
 Hypoxylon pruinatum 69, 118, 119.
- Idus melanotus 243.
 Igelfloh-Larven 200.
 Iguaniden 316.
 Indolylessigsäure 18.
 Inosit 58, 105, 109.
 Inositol 49, 106.
 Insectivora 203.
 Insekten 204, 206f., 221, 222.
 — Larven 184.
 Insulin 44, 140, 456, 463f., 475.
 Iotrochota birutulata 269.
 Iquana tuberculata, JACOBSONSches Organ 332.
 Ironus ignavus 242.
 Isocytosin 136.
 Isolyse 453.
 Isopoden 205, 218, 221.
 Isophylla 278.

- JACOBSONSches Organ 292f.
 — — bei Brutpflege 327.
 — — Erektionsphase 296.
 — — Funktion bei Reptilien 305f.
 — — Kontraktionsphase 296.
 — — einer Maus 294, 295.
 — — Versuch über Eintreten von Partikeln in das ... Tab. 298.
 — — — Wirkung von Adrenalin Tab. 299, 300.
 Jod 479.
 JOHNScher Bazillus 11, 150.
- Kabeljau 232.
 Kalium 52.
 Kaliumjodit 456.
 Kaliumpermanganat 23.
 Kaliumphosphat 132.
 Kambium 115.
 Kandiszucker 6.
 Kaninchen 86, 176, 296, 299, 393, 422, 478.
 Kaolin 23.
 Karzinom 433f.
 Karpfen 206.
 Kartoffel 51.
 Kariokinese 367.
 Kasein 136, 477.
 Katze 176, 373, 477, 478.
 Katzenserum 478.
 Kieselgurgranulom 433.
 Klasmotozyten 432.
 Kleberprotein 8.
 Knautia 50.
 Knochenmarkextrakt 423.
 Knöllchenbakterien 196.
 Kochsalz 105.
 Kochscher Bazillus 11, 150.
 Kohlehydrat 11.
 Korallen 178, 283.
 Kotyledonen 151.
 Krabben 221.
 Krebse 201.
- Krötenkaulquappe 211.
 Kryptogamen 60.
 Kupfer 12, 228.
- Labyrinthfische 216.
 Lacerta agilis, JACOBSONSches Organ 306, 321, 332.
 — fiumana, Zungenform 330.
 Lacertiden 316.
 Lacertilia 305.
 Lachesis atrox 313.
 Lachs 202.
 Lactobacillus casei 123.
 — Delbrückii 121.
 Lactoflavin 21, 49, 52, 119f., 142, 146.
 Lagostomus 296.
 Lama huanachus 236.
 — vicugna 236.
 Lamellibranchiaten 208, 264, 268.
 Lamellibranchier 191.
 Landnemertinen 218.
 Landschnecken 204.
 Lasiocampa-Raupen 230.
 Lauterbornia coracina 242.
 Leber 51, 106, 121.
 Leberegel 193.
 Leberepithel 442.
 Leberextrakt 137.
 Lecithin 137f.
 Leishmania ceramodactyli 127.
 — donovani 124, 127.
 — tropica 124, 127.
 Lemming 296.
 Lemur 296.
 Leukozyten-Anhäufung 453.
 Lenzites sepiaria 57, 58, 70, 99.
 Lepidocephalus 217.
 Lepidosiren 214.
 Lepidosteus 217.
 Leptodora 211.
 Leptomonas ctenocephali 127.
 Leucandra aspera 263, 264, 265.
 Leucin 58, 108f.
 Leucicus 206.
- Leucicus leucicus 242.
 — rutilus 242.
 Leuconia solida 263, 269.
 Libellen-Larven 205.
 Ligia 203, 218.
 Limax 198, 206.
 Limnaea 190, 209, 211, 231.
 Limnodrilus 199.
 Limnophilinen 225.
 Limulus 177, 210, 233, 234.
 LINDBERGSche Durchströmungsflasche 369.
 Linuche 273, 283.
 Litarachna 186.
 Lithionkarmin 422.
 Litorina 221.
 Loligo 233, 234.
 Lophius 234.
 Lophodermium pinaster 69, 118, 119.
 Lota vulgaris 242.
 Loxodes rostrum 196.
 Lucioperca Sandra 242.
 Lumbriculus 201, 227.
 Lungenalveole 364.
 Lungenschnecken 211, 222.
 Lutein 125.
 Lysin 146f.
 Lysindichlohydrat 58.
- Macromonaden 196, 200.
 Madreporiaria 274, 283.
 Maeandra 278.
 — areolata 281.
 Magnesium 21, 463f., 475.
 Maiskeimlinge 19.
 Makrele 234.
 Makrophagen 390.
 Malonsäure 136.
 Maltose 8, 44.
 — Kahlbaum 23f.
 Malz 64.
 Malzextrakt 18, 58f.
 Mangan 12.
 Mangrovekrabben 213, 218.
 Mangroven, Atemwurzeln 198.
 Mannit 105.

- Mannitol 106.
 Mansonia 200.
 Marsupialia 293.
 Marmite 131.
 Mastigophora 71.
 Maus 296, 467.
 Medullarrohrelemente 420.
 Medusen 273, 275.
 Meerschweinchen 296, 302, 401, 433, 436, 441, 477, 478, 480.
 Megalophrys 211, 225.
 Melanconium betulinum 69, 118, 119, 141.
 Melanconis 118.
 Melandrium album 43.
 Melanospora destruens 69.
 Melasse 53.
 Meningococcus 147.
 Mensch 203, 208.
 Merulius lacrymans 57, 70.
 Mesohämin 127.
 Mesoinosit 52, 104, 117f., 146.
 Methämoglobin 126.
 Methanol 122.
 Methylocholanthren 439.
 Methylenblau 129.
 Methylisoalloxazin 123.
 Metridium dianthus 279.
 — marginatum 276, 282.
 — senile 278.
 Mikroorganismen 1f.
 Milch 122.
 Milchpulver 51.
 Milchsäure 6, 280.
 Milchsäurebakterien 6, 116, 121, 122f., 141.
 Minisitol 119.
 Misgurnus fossilis 217, 226.
 Mitochondrien 395, 438.
 Mollusken 218, 219, 228, 237, 239.
 Molybdän 12, 13, 51.
 Molybdänhämatoxylin 384, 432.
 Moniezia 193.
 Monobionten 192.
 Monocaulus imperator 271.
 Monodiamesa bathyphila 242.
 Monopterus javanensis 217.
 Monotremata 293.
 Moos 188.
 Mortierella candelarum 38, 69.
 — isabellina 37, 69.
 — pusilla 37, 69.
 Mucorineen 23, 37, 47, 48, 50, 53, 55, 59, 64, 82, 140, 150.
 Mucor circinelloides 38, 68.
 — griseo-lilacinus 68.
 — hiemalis 37, 38, 68, 74, 120.
 — mucedo 37, 38, 68, 74, 120.
 — Ramannianus 37, 64, 67, 68, 77, 78, 83, 89, 90, 95, 96, 141, 149, 150, 151.
 — — Aneurinwirkung 65, 66.
 Mus musculus, JACOBSONSches Organ 295.
 Mya arenaria 209, 237, 278.
 Mycale syrinx 269.
 Mycobacterium phlei 125, 150.
 — tuberculosus v. bovis 150.
 — — hominis 150.
 Mycoderma Borgetii 140.
 Myeloblasten 426.
 Mykorrhiza 64, 65.
 Myoblasten 375.
 Mycoastor coypus, JACOBSONSches Organ 297.
 Myokardium 375.
 Myriapoden 191.
 Mysis relicta 186, 242.
 Mytilit 105.
 Mytilus edulis 210.
 Myxomyceten 200.
 Myzelien 13.
 Nagetier 302.
 Naiden 198.
 Naja tripudians 313.
 Natrium 132.
 Natriumazetat 54.
 Nectria coccinea 60, 69, 99, 119.
 Nekrosen 441.
 Nemachillus barbatula 242.
 Nemätooden 191, 194, 242.
 Nematospora coryli 116.
 — gossypii 69, 116, 117, 118, 119, 141, 143, 146, 149.
 Neomysis vulgaris 187.
 Nepiden 198.
 Nereis diversicolor 207.
 — virens 207, 209, 215, 227, 229.
 Neuriten 405.
 Neuroblasten 403, 409f.
 Neuroepithelkultur 410.
 Neuroepithelmembran 406, 408.
 Neurofibrillen 449.
 Neurolyse 453.
 Neurotropismus 454.
 Neutralrot 438.
 Nicotin 71, 116, 153.
 Nicotinsäure 49, 51, 52, 61, 124, 131f., 144.
 Nicotinsäureamidmethojodid 87.
 Nierenglomerulus 364.
 Nilblausulfat 265.
 Nitzschia closterium 124.
 Normoblasten 426.
 Notanaerobiose 191.
 Notonecta 199, 222, 223.
 Octocorallia 274.
 Octopoden 206.
 Octopus 209.
 Ocypodiden 221.
 Oligochäten 221.
 Olindias 275.
 Omorgus 196.
 Oomyceten 41.
 Ophidia 305.
 Ophiocephalus 217.
 Ophisaurus apus 316, 317.
 Opsanus tau 233, 234.
 Orbicella 278.
 Orchideen 10, 24, 148f.

- Orchidraspongia rotunda 265, 267.
 Orobanche 25.
 Oryctolagus cuniculus 298, 299, 300, 303.
 — — JACOBSONSches Organ 294, 303, 304.
 Osteoblasten 390.
 Ostracoden 191.
 Östron 138.
 Owenia 191.
 Oxalsäure 20, 106, 136.
 Oxybelis fulgidus 313.
 Oxygenotaxis 197f., 277.
 Oxyhämoglobin 126.

 Pagurus 269.
 Paludina vivipera 225.
 Pandorina 179.
 Pankreatin 475.
 Pantothensäure 63, 106, 113, 119, 122.
 Papayotin 8.
 Paramaecium 193.
 Paraponyx-Larven 214.
 Parasitella simplex 37, 64, 67, 68, 91.
 Parasitismus 10.
 Pectinaria 227.
 Pelagia noctiluca 282.
 Pemelinsäure 142.
 Penicillium glaucum 99, 147.
 — notatum 60, 69,
 — Roqueforti 21.
 Pennaria cavolinii 286.
 Pennatularia 274.
 Pepsin 8, 462.
 Pepton 54, 55, 57, 123, 124, 129, 130, 137.
 Perca flavescens 202.
 — fluviatilis 242.
 Perichondrium 390.
 Periophthalmus 217.
 Periplaneta 208, 232.
 — americana 148.
 Perithezien 118.
 Permeabilität 14.
 PFEIFFERScher Bacillus 126.
 Pferdespringer 296.
 Phakellia 266.
 Phalaenopsis amabilis 149.

 Phäopharbit-a-hämin 127.
 — -b-hämin 127.
 Phanerogamen 24.
 Phenol 463f., 475.
 Phenylalanin 58.
 Phosphate 457.
 Phosphor 181.
 Phosphorpyridinnukleotid 87.
 Phosphorsäure 129.
 Phosphowolframsäure 112.
 Phototaxis 198, 269.
 Phoxinus laevis 242.
 Phryganea grandis 206.
 Phycomyces 5, 7, 9, 23f., 27, 28, 32, 33, 45, 46, 51, 56, 59, 77, 96f., 119, 124, 146.
 — blakesleeanus 23, 66, 68, 72, 73, 78, 79, 123, 141.
 — Einfluß der Maltose
 Kahlbaum auf die
 Zygotenbildung 24.
 — Entwicklung 25.
 — -Extrakt 121.
 — -Mycel 49.
 — nitens 23, 66, 68.
 — Tab. 38.
 — Wirkung von Pyrimidin und Thiazolmengen Tab. 62.
 Physalia 273.
 Physe 200.
 Physignathus lesueurii 331.
 — — Zungenform 330.
 Physophoren 272.
 Phytohormon 17.
 Phytomastigina 71.
 Phytophthora 41f.
 — Boehmeriae 42, 66, 68.
 — cactorum 41, 42, 66, 68, 69.
 — — Aneurinwirkung 42.
 — cambivora 42, 66, 68.
 — capsici 42, 66, 68.
 — cinnamomi 42, 66, 68, 89, 141.
 — — Aneurinwirkung 66.

 Phytophthora, citrophthora 66, 68.
 — cryptogea 42, 66, 68.
 — Drechsleri 42, 66, 68.
 — fagopyri 64, 67, 68.
 — palmivora 42, 66, 68.
 — parasitica 42, 66, 68.
 Pikrofuchsin 371, 372, 387, 388.
 Piktotrypanblau 372.
 Pilaira 151.
 — anomala 37, 64, 67, 68.
 — Moreaui 67, 68.
 Pilze 9.
 Pimelinsäure 52, 136f.
 Pinus 64.
 Piptocephalis Fresenianus 37, 69, 151.
 Pisidien 198, 242.
 Pisum 62, 78, 94, 96.
 Pitressin 457.
 Planarien 195, 210, 232, 239.
 Planorbiden 198.
 Planorbis 209, 210, 223, 227, 228f.
 Planula 284.
 Platinmohr 87.
 Plecostomus 217.
 Pleurococcus 268.
 Pleuronectes 193.
 Pneumathophoren 272.
 Pencillopora 279.
 Poikilothermen 184, 467.
 Polychäten 197.
 Polyneuritis 22.
 Polypen 283.
 Polyporaceen 54, 55.
 Polyporus 8.
 — abientinus 57, 58, 70, 90.
 — — Aneurinwirkung Tab. 56.
 — adustus 58, 70, 72, 99, 120, 149.
 — — Aneurinwirkung Tab. 56, 57.
 — amorphus 57.
 — amosus 57, 58, 70, 99.
 — benzoinus 57, 58, 70, 99.
 — fomentarius 57, 70.
 — Spraguei 70.
 — zonatus 57, 70.

- Polypterus 217.
 Polytoma 196.
 — caudatum 67, 71, 77.
 — obtusum 71.
 — ocellatum 67, 71, 77, 80.
 — uvella 71, 74, 195.
 Polymella caeca 54, 67, 71, 77, 79, 80, 82.
 Pontarachna 186.
 Pontoporeia affinis 186, 242.
 Porites 278.
 Porpitella 273.
 Potamonautus perlatus 178.
 Polassium 475.
 Prasiola 51.
 Prodiamesa 227, 231.
 Propionibacterium pentosaceum 51, 72.
 — technicum 122.
 Propionsäurebakterien 51.
 Prosobranchiaten 22.
 Proteus 222, 225.
 Protein 455.
 Proteosen 462.
 Protohämin 127.
 Protoporphyryn 127.
 Psalliota campestris 70.
 Psectrotanypus 227.
 Pseudopocryptes janceolatus 217.
 Pulmonaten 219, 222.
 Purinbase 129.
 Purpurbakterien 196, 200, 201.
 Pyridin 122, 133f.
 Pyrimidin 9, 60f., 65, 142f.
 Pyronema confluens 21, 140.
 Pyrrhohämin 127.
 Pyrrol 126.
 Pyruvaten 86.
 Pythium arrhenomanes 68.
 — Butleri 64, 67, 68, 90, 91, 98, 144.
 — polycladon 64, 67.
 — scleroteichum 68, 74.
 Python morulus 308.
- Quarzsand 38.
 Quebrachid 105.
 Quecksilbernitrat 129.
 Quercus robur 115.
 Quersit 105.
- Ratte 5, 22, 23, 86, 101, 123, 296, 467, 478.
 Regenwurm 175, 192, 199, 230.
 Reiskleie 22, 106.
 Reniera rosea 263, 269.
 Reptilien 206, 237, 293, 305f.
 Residualenergie 549.
 Resorzin-Fuchsin-Reaktion 389.
 Rhea americana 236.
 Rhiptoglossa 305, 332.
 Rhizobium rademicola 51, 53.
 — trifolii 52, 53.
 Rhizophysa 272.
 Rhizopoda 71.
 Rhizopin 18, 19.
 Rhizopus 20.
 — arrhizus 41.
 — chinensis 39, 40, 41.
 — bovinus 39, 41, 68.
 — japonicus 39, 40, 41.
 — maydis 39, 40, 69.
 — nigricans 39, 40, 69.
 — nodosus 39, 41.
 — oryzae 39, 69.
 — suinus 18, 21, 39, 41, 120.
 — tonkinensis 39.
 — tritici 39, 41.
 Rhizostoma pulmo 275, 279, 280, 281.
 Rhodeus amarus 243.
 Rhodin 127.
 Rhodotorula aurea 74.
 — flava 70, 123, 140.
 — glutinis 140.
 — — var. Satoi 140.
 — longissima 140.
 — mucilaginosa 67, 70.
 — rubra 62, 67, 70, 72, 80, 83, 89, 90, 92, 95, 96, 100, 141, 149, 150.
 — — Aneurinwirkung 63, 66.
 — sanguinea 67, 70.
- Rhodotorula sanniei 64, 70, 98, 100, 125, 144.
 — Sugannii 140.
 Rhyacophila 225.
 RIBBERTSche Spannungslehre 459.
 Rind 189.
 Rinderserum 477
 Rithrogena 225.
 Rodentia 293.
 Rohrzucker 51, 114.
 Roussarkom 461.
 Roussarkomzellen 436.
- Sabelliden 228.
 Sacharomyces 103, 104, 107, 148.
 — cerevisiae 53, 63, 69, 85, 111, 112, 114, 120, 141.
 — — galactosus 112.
 — Hanseniaspora valbyensis 112, 114.
 — mandshuricus 114.
 Saccharose 8.
 Saccobranchus fossilis 217.
 Sagartia troglodytes 278.
 Salamander-Larven 226.
 Salix fragilis 115.
 Saponin 8, 44f.
 Sapropel 189.
 Sapropelciliaten 192.
 Saprophyten 150.
 Saprophytismus 10.
 Sarcina aurantiaca 53.
 — flava 53.
 Sarkolyse 453.
 Sarkome 433f.
 Sarkomzellen 357.
 Sauerstoff als ökologischer Faktor, Anpassung von Luftatmern an das Wasserleben, Insekten, Lungenschnecken, Spinnen, Wirbeltiere 222.
 — — — Atmungsmedium Wasser 173f.
 — — — Atmungsregulation 202.
 — — — Dissoziationskurve 228.

- Sauerstoff als ökologischer Faktor, Eigenschaften der Blutfarbstoffe 227f.
 — — — — Einfluß auf den Kreislauf 215f.
 — — — — Einfluß beim Aufbau der Atmungsorgane 224f.
 — — — — Euryoxybionte und stenoxymbionte Organismen 194f.
 — — — — Luftatmungsorgan der Fische 216f.
 — — — — Luft- und Wasseratmung 218f.
 — — — — Notatmung 211.
 — — — — bei Fischen 213f.
 — — — — Tierwanderungen 201.
 — — — — Wasserzirkulationsatmung 213.
 Säugetierblut 235.
 Säugetiere 210.
 Scaphognathiten 205.
 Sceloporus undulatus 327.
 Schaf 176, 296.
 Schilddrüse 473.
 Schilddrüsenepithel 442.
 Schildkröte 225, 305.
 Schimmelpilze 6.
 Schizophyllum commune 64, 70.
 Schizopoden 187.
 Schizotrypanum cruci 124, 127.
 Scholle 232.
 Schwämme 208, 214, 262f.
 — Sauerstoffbedürfnis 269.
 — Vorkommen von grünen Algen 268.
 Schwefel 22.
 Schwefelbakterien 196.
 Schwein 189, 296.
 Sclerotinia cinerea 60, 69, 99, 119.
 Sclerotium delphinii 64, 67, 71.
 — Rolfsii 64, 67, 71.
 Scorpaena 278.
 Scrophulariaceen 10.
 Scyphozoen 273.
 Seehund 236.
 Seeigeleier 101.
 Seelöwe 236.
 Seestern 206.
 Sergentia profundorum 242.
 Serizin 54.
 Serpuliden 228.
 Serum homologous 463f.
 Siderastrea 278.
 — radians 281.
 Silbernitrat 363, 387.
 Silurus glanis 243.
 Siphonophoren 272, 275.
 Sipunculoideae 228.
 Sipunculus 191, 239.
 Sitodrepa 200.
 — -Larven 148.
 Sitostanol 138.
 Sitosterol 138.
 Skorpion 177.
 Natrium 463f., 475.
 — bicarbonate 475.
 — dihydrogen 475.
 Sorbit 105.
 Spermophthora gossypii 116.
 Sphaeroides 206, 209.
 Sphaerulina trifolii 64, 69.
 Spinnen 204, 222.
 Spinosella saroria 265.
 Spirographis 199, 228.
 Spirostomum 195.
 Spongiaria 271.
 Spongilla fragilis 268.
 — lacustris 268.
 Sporodinia grandis 37, 38, 68, 120.
 Spulwurm s. auch Ascaris 193.
 Spurenelemente 13.
 Squalius cephalus 242.
 Squamata 305, 306.
 Squilla mantis 205.
 Staphylococcus 52, 76, 77, 95, 96, 101, 125, 135.
 Staphylococcus aureus 51, 61, 72, 77f., 116, 131f., 141, 144.
 — — Aneurinwirkung 86, 88, 92.
 Stärke 44.
 Steinkorallen 281.
 Stenobarische Organismen 176.
 Stenothermie 185.
 STENSONScher Gang 294, 300f.
 Stephanomia 272.
 Stereum frustulosum 70.
 STERNBERGSche Riesenzellen 425.
 Stichling 190.
 Stickstoff 12, 181.
 Stictochironomus 227.
 Storeria dekayi 311, 315, 318, 326.
 Streptobacterium plantarum 122.
 — casei 122.
 Streptococcus faecum 122.
 — glycerinaceum 122.
 — liquefaciens 122.
 — mastilidis 122.
 Streptothrix corallinus 23, 84, 85, 106, 147.
 Strigomonas culicidarum 71, 77, 78.
 — — var. anophelis 127.
 — fasciculata 71, 127, 128, 141.
 — muscidarum 127.
 — oncopelti 54, 66, 71.
 Stylarioides plumosus 197.
 Stylum heliophila 267.
 Suberinsäure 136.
 Suberites domuncula 263, 265, 269.
 — massa 268, 269.
 Sycon raphanus 263.
 Symbranchus marmoratus 217.
 Syncephalastrum cinereum 37, 69.
 Syrphiden 221.
 — -Larven 208.
 Szyllit 105.

- Tachiniden 200.
 Talpa 296.
 Tannin 113.
 Tanyppus 242.
 Tanytarsus 220, 240.
 — -Seen 195, 241.
 Tarbopis fallax 313.
 Tatusia 296.
 Taube 22, 23, 86, 101.
 Taubenserum 137.
 Tealia felina 277, 278.
 Tejidæ 316.
 Termopsis 237.
 Testosteron 138, 140.
 Testudinata 305.
 Tetramitidæ 137.
 Thallium 12.
 Thamnidium elegans 37,
 38, 69.
 Thamnophis sirtalis sir-
 talis 311, 315, 318,
 320, 321, 322, 328.
 Thermalquellen 190.
 Thermobacterium cere-
 ale 124.
 — helveticum 122.
 — lactis 122.
 Thethya lyncurium 269.
 Thiamin 22f.
 Thiazol 9, 60f., 142.
 Thiazolpilz 64.
 Thiochrom 83, 89.
 Thioformamin 95.
 Thiopedia 196.
 Thrombokinas 460.
 Thymallus vulgaris 242.
 Thymonukleinsäure 457.
 Thymus 477.
 Thyreoglobulin 479.
 Thyreoidea 461.
 Thyroxin 140, 456, 463,
 475.
 — -Heparinplasmage-
 misch 417.
 Tierkohle 23, 41, 103,
 106, 113, 148.
 Tilletia horrida 72.
 — tritici 71.
 Tomate 96.
 Tomatensaft 112.
 Torula cremoris 70.
 — fermentati 70.
 — glutinis 64.
 — Hansen 70, 90.
 — kefy 70.
 Torula Laurentii 67,
 70, 90.
 — monosa 140.
 — nigra 64.
 — rosea 53, 90.
 — rubescens 64.
 — rubra 125.
 — sanguinea 90.
 — shpaerica 70, 90.
 — utilis 53.
 Torulin 106.
 Torulopsis rotundata 140.
 Total N 462.
 Tracheaten 219.
 Trametes cinnabarina
 57, 70.
 — serialis 57, 58, 70, 99.
 Traumatin 115.
 Trephone 361, 420, 454,
 459, 460.
 Tricholoma nudum 59,
 70.
 Trichomonas columbae
 112, 124, 137, 138.
 — foetus 138, 141.
 Trichophyton interdigi-
 tale 119.
 Trichopteren 225.
 Trichosurus vulpecula
 296.
 Trichotanyppus 242.
 Trifolium partense 51.
 Trilobus gracilis 242.
 Triops cancriformis 213.
 Triturus 210.
 — pyrrhogaster 239.
 Trockenhefe 148.
 Tropidonotus natrix 311,
 323, 331.
 — — JACOBSONSches
 Organ 309, 332.
 — — Suchbewegungen
 314, 315.
 — — Zungenform 330.
 Trutta fario 242.
 Trypanblauspeicherung
 482.
 Trypanosomen 191.
 Trypanosomiden 124.
 Trypsin 462, 475.
 Tryptophan 135, 457,
 475.
 Tuberkelbazillen 422.
 Tubifex 199, 201, 208,
 227, 231, 232, 242.
 Tubifex barbatus 242.
 — tubifex 242.
 — velutinus 242.
 Tubificiden 191, 198,
 207, 239.
 Tubularia 191, 278.
 Tumorzellen 436.
 Tümmler 236.
 Tunicaten 205.
 Tupinambis teguixin
 308.
 Turbellarien 178, 218.
 Tyrodelösung 417, 441f.
 Tyrosin 58.
 Ultramikronen 448.
 Umbra 217.
 Ungulata 293.
 Unio 225.
 Unicola 225.
 Urechis caupo 229.
 Uranoscopus 206, 209.
 Uracil 136.
 Uredinen 153.
 Ustilagineen 42f.
 Ustilago avenae 50, 70.
 — bormivora 50, 70.
 — hordei 50, 70.
 — levis 50, 70.
 — longissima 50, 70.
 — melandrii 50.
 — muda 50, 70.
 — scabiosa 50, 70, 67.
 — tritici 50, 70, 74.
 — violacea 42f., 45, 46,
 47, 48, 49, 56, 67, 70,
 73f., 88, 89, 94, 97,
 123.
 — — sp. dianthi del-
 toides 50.
 — zea 43, 50, 70.
 Valin 129.
 Valsa ceratophora 99.
 — pini 69, 99, 119, 141.
 — — Wachstum in
 Nährlösung 118.
 Vanadium 13.
 Vandein-Vitamin 149.
 Varanidae 316.
 Varanus girseus 319, 320,
 328, 331.
 — — Zungenform 330.

- Verella 273.
 Vibrio alcaligenes 50.
 Vicia faba 149.
 Vipera aspis 311, 312, 313, 320.
 — berus 313.
 Viskosität 14.
 Vitamine 1f.
 — und Wachstumsfaktoren, Aminosäure 135f.
 — — — Codehydrasen 129f.
 — — — Cozymase 129.
 — — — Das Vitamin B als Wachstumsfaktor 22f.
 — — — Eigenschaften der Wachstumsfaktoren 7f.
 — — — Faktoren X und V und das KEILIN-WARBURGsche System 131.
 — — — Gewichtszunahme der Ratte mit verschiedenen Vitamindosen 5.
 — — — Hämatin 126f.
 — — — Hormone der Auxingruppe 139f.
 — — — Pimelinsäure 136.
 — — — Pseudowachstumsfaktoren mineralischer Natur 12f.
- Vitamine und Wachstumsfaktoren, Symbiose, Parasitismus 147.
 — — — Tierische Hormone 140.
 — — — Wirkung verschiedener aktiver Substanzen auf Aspergillus niger 17f.
 — — — Wuchsstoffbedürfnis 10.
 Vitaminstoffwechsel 439.
 Vögel 236.
 Vorticella 198.
 — nebulifera 197.
- Wachstumsfaktoren 1f.**
 Wale 224.
 Wasserkäfer 207.
 Wassermilben 186, 225.
 Wasserstoffionen 14.
 Wasserstoffsperoxyd 23.
 Weizenkeime 22, 26, 64, 102.
 Weizenkeimextrakt 40, 59.
 WINKLERSche Originalmethode 184.
 Wirbeltiere 222, 229.
 Wirkstoff 6, 8f.
 WITTES Pepton 457, 463, 475f.
- WOLFFSche Peroxydase 127.
 Wollhandkrabbe 213.
 Wuchsstoff 5f.
 Wühlmaus 296.
 Wundhormone 454.
 Würmer 191, 237.
- Xenarthra 293.**
 Xenia 275.
 Xylaria hypoxylon 60.
- Zenoriten 148.
 Zeolith 23.
 Ziesel 296.
 Zink 12, 13, 19.
 Zonurus 316.
 Zoochlorellen 268, 283.
 Zoomastigina 71.
 Zooxanthellen 273, 283, 284.
 Zucker 13, 36, 102.
 Zygomyceten 23f.
 Zygorynchus Moelleri 37, 38, 68.
 — Dangeardi 37, 68.
 Zygosaccharomyces mandshuricus 114.
 Zyklhexanol 105.
 Zystein 52.
 Zysteinhydrochlorid 456.
 Zytochrom 194.
 Zytoplasma 9.
 Zytoplasmahypertrophie 436.

Inhalt der Bände I—XVI.

I. Namenverzeichnis.

	Band	Seite
Bachmann, F. (Leipzig). Das Saftsteigen der Pflanzen . . .	I	343—379
Balss, H. (München). Wanderungen bei Decapoden (Crustaceen)	6	305—326
Bauer, Karl (München). Über Explantation „in vitro“ . . .	16	336—512
Bavendamm, Werner (Dresden-Tharandt). Die Physiologie der schwefelspeichernden und schwefelfreien Purpurbakterien	13	1—53
Biedermann, W. (Jena). Vergleichende Physiologie des Integuments der Wirbeltiere. I. <i>Die Histophysiologie der typischen Hautgewebe</i> . II. <i>Die Hautfärbung der Fische, Amphibien, Reptilien</i>	I	1—342
— Histochemie der quergestreiften Muskelfasern	2	416—504
— Vergleichende Physiologie des Integuments der Wirbeltiere. IIIa: <i>Stützende und schützende Integumentalorgane niederer Wirbeltiere (Hautskelette)</i> , IIIb: <i>Das Federkleid der Vögel</i>	3	354—541
— IV. <i>Das Haarleid der Säugetiere</i>	4	360—680
— V. <i>Die Hautsekretion</i>	6	426—558
Bodenstein, Dietrich (Stanford University, Californien). Das Determinationsgeschehen bei Insekten mit Ausschluß der frühembryonalen Determination	13	174—234
Boresch, K. (Tetschen-Liebwerd). Über Ertragsgesetze bei Pflanzen	4	130—204
v. Brand, Th. (Hamburg). Das Leben ohne Sauerstoff bei wirbellosen Tieren	10	37—100
— (Kopenhagen). Der Stoffwechsel der Protozoen	12	161—220
Brauner, L. (Jena). Die Blaauwische Theorie des Phototropismus	2	95—115
Brücke, E. Th. (Innsbruck). Vergleichende Physiologie des Erregungsvorganges	6	327—425
Buchner, P. (Breslau). Ergebnisse der Symbioseforschung. I. <i>Die Übertragungseinrichtungen</i>	4	1—129
Bünning, Erwin (Königsberg i. Pr.). Die Entstehung der Variationsbewegungen bei den Pflanzen	13	235—347
du Buy, H. G. und E. Nuernbergk (Utrecht). Phototropismus und Wachstum der Pflanzen. I.	9	358—544
— — Phototropismus und Wachstum der Pflanzen. II. . . .	10	207—322
— und E. L. Nuernbergk (Utrecht). Phototropismus und Wachstum der Pflanzen. III.	12	325—543
Feinschmidt, O. und D. Ferdmann (Charkow). Der Winterschlaf	8	1—75
Ferdmann, D. und O. Feinschmidt (Charkow). Der Winterschlaf	8	1—75
Fischel, Werner (Münster [Westfalen]). Vergleichende Untersuchung des Verhaltens der Wirbeltiere	11	219—243
Fraenkel, Gottfried (Frankfurt a. M.). Die Wanderung der Insekten	9	1—238

	Band	Seite
Gause, G. F. (Moskau). Raumaufbau des Protoplasmas . .	13	54—92
Gicklhorn, J. (Prag). Elektive Vitalfärbungen. Probleme, Ziele, Ergebnisse, aktuelle Fragen und Bemerkungen zu den Methoden	7	549—685
Goldschmidt, R. (Berlin-Dahlem). Die zygotischen sexuellen Zwischenstufen und die Theorie der Geschlechtsbestimmung	2	554—683
Gradmann, H. (Erlangen). Das Winden und Ranken der Pflanzen	5	168—218
Hanström, Bertil (Lund). Inkretorische Organe und Hormonfunktionen bei den Wirbellosen	14	143—224
Hilzheimer, M. (Berlin). Die Wanderungen der Säugetiere	5	219—289
Jacobs, M. H. (Philadelphia). The Permeability of the Erythrocyte	7	1—55
— Diffusion Processes	12	1—160
— W. (München). Der Golgische Binnenapparat. Ergebnisse und Probleme	2	357—415
— Werner (München). Das Schweben der Wasserorganismen	11	131—218
Just, Günther (Greifswald). Faktorenkoppelung, Faktorenaustausch und Chromosomenaberrationen beim Menschen. (Nebst eine meinleitenden Abschnitt zu Fragen des höheren Mendelismus beim Menschen)	10	566—624
— Multiple Allelie und menschliche Erblehre	12	221—324
Kahmann, Hermann (München). Von der Leistung des Jacobsonschen Organs bei den Wirbeltieren	16	292—335
Kaho, H. (Tartu [Dorpat]). Das Verhalten der Pflanzenzelle gegen Salze	1	380—406
Katz, D. (Rostock). Sozialpsychologie der Vögel	1	447—478
Kiesel, A. (Moskau). Der Harnstoff im Haushalt der Pflanze und seine Beziehung zum Eiweiß	2	257—310
Klein, Bruno M. (Wien). Das Ciliensystem in seiner Bedeutung für Locomotion, Koordination und Formenbildung mit besonderer Rücksicht der Ciliaten	8	76—179
Koch, Walter (München). Die praktische Anwendung von Hormonen bei Nutztieren	15	1—66
Kolbe, R. W. (Berlin-Dahlem). Grundlinien einer allgemeinen Ökologie der Diatomeen	8	221—348
Krijgsman, B. J. (Buitenzorg, Java). Neuere Ansichten über die Permeabilität von nichtlebenden und lebenden Membranen	9	292—357
Ledebur, Joachim Frhr. von (Neustadt im Schwarzwald). Der Sauerstoff als ökologischer Faktor	16	173—261
— Über die Atmung der Schwämme und Coelenteraten	16	262—291
Mangold, O. (Berlin-Dahlem). Das Determinationsproblem. I. <i>Das Nervensystem und die Sinnesorgane der Seitenlinie unter spezieller Berücksichtigung der Amphibien</i>	3	152—227
— II. <i>Die paarigen Extremitäten der Wirbeltiere in der Entwicklung</i>	5	290—404
— III. <i>Das Wirbeltierauge in der Entwicklung und Regeneration</i>	7	193—403
Marx, Lore (Kopenhagen). Bedingungen für die Metamorphose des Axolotls	11	244—334
Nuernbergk, E. und H. G. du Buy (Utrecht). Phototropismus und Wachstum der Pflanzen. I.	9	358—544

	Band	Seite
Nuernbergk, E. und H. G. du Buy (Utrecht). Phototropismus und Wachstum der Pflanzen. II.	10	207—322
— E. L. und H. G. du Buy (Utrecht). Phototropismus und Wachstum der Pflanzen. III.	12	325—543
Parker, G. H. (Cambridge [Mass.], U. S. A.). The Movements of the Retinal Pigment	9	239—291
Pirschle, Karl (Berlin-Dahlem). Die Bedeutung der Spurenelemente für Ernährung, Wachstum und Stoffwechsel der Pflanzen.	15	67—165
Prianischnikow, D. N. (Moskau). Ammoniak, Nitrate und Nitrite als Stickstoffquellen für höhere Pflanzen . . .	1	407—446
Schaede, R. (Breslau). Die Kolloidchemie des pflanzlichen Zellkernes in der Ruhe und in der Teilung	5	1—28
Scharnke, Hans (München). Die Bedeutung der Luftsäcke für die Atmung der Vögel	10	177—206
Scheuring, L. (München). Die Wanderungen der Fische. I. — Die Wanderungen der Fische. II.	5 6	405—691 4—304
Schopfer, William H. (Bern). Vitamine und Wachstumsfaktoren bei den Mikroorganismen, mit besonderer Rücksicht des Vitamin B ₁	16	1—172
Schratz, E. (Berlin-Dahlem). Die „Manoiloff-Reaktion“. Ihre chemische und physiologische Begründung	3	228—264
Seybold, A. (Köln a. Rh.). Die pflanzliche Transpiration. I. — Die pflanzliche Transpiration. II.	5 6	29—165 559—731
Singer, L. (München). Vergleichende Betrachtung der pathologischen Anatomie und Physiologie des Zentralnervensystems	7	56—117
von Skramlik, E. (Freiburg i. B.). Die Milz. Mit besonderer Berücksichtigung des vergleichenden Standpunktes . .	2	505—553
— Emil (Jena). Über den Kreislauf bei den Fischen . .	11	1—130
— Über den Kreislauf bei den niedersten Chordaten . .	15	166—308
Stark, P. (Breslau). Das Reizleitungsproblem bei den Pflanzen im Lichte neuerer Erfahrungen	2	1—94
Steiner, A. (Bern). Neuere Untersuchungen über die Arbeitsteilung bei Insektenstaaten	10	156—176
Steiniger, Fritz (Greifswald). Die Biologie der sog. „tierischen Hypnose“	13	348—451
Stern, C. (Berlin-Dahlem). Fortschritte der Chromosomentheorie der Vererbung	4	205—359
Stocker, O. (Bremerhaven). Das Halophytenproblem . . .	3	265—353
ten Cate, Jan (Amsterdam). Physiologie des Zentralnervensystems der Fische	11	335—409
ten Cate, J. (Amsterdam). Physiologie des Zentralnervensystems der Reptilien	14	225—279
— Physiologie des Zentralnervensystems der Vögel . . .	13	93—173
Umrath, Karl (Graz). Der Erregungsvorgang bei höheren Pflanzen	14	1—142
Verzár, F. (Basel). Die Bedeutung der Vitamine in allgemein biologischer Beziehung	10	101—155
Wachs, H. (Rostock). Die Wanderungen der Vögel . . .	1	479—637
Weiss, P. (Wien). Erregungsspezifität und Erregungsresonanz. Grundzüge einer Theorie der motorischen Nerventätigkeit auf Grund spezifischer Zuordnung („Abstimmung“) zwischen zentraler und peripherer Erregungsform. (Nach experimentellen Ergebnissen)	3	1—151

	Band	Seite
v. Wettstein, F. (Göttingen). Die Erscheinung der Heteroploidie, besonders im Pflanzenreich	2	311—356
Wetzel, K. (Leipzig). Die chemischen Vorgänge beim biologischen Kohlehydratabbau. I. <i>Die einleitenden Prozesse der biologischen Zuckerspaltung</i>	7	404—548
— II. <i>Die oxydoreduktive Phase</i>	10	323—565
Winkler, K. (Breslau). Vergleichende Pathologie der Geschwülste	5	692—796
Winterstein, H. (Breslau). Wilhelm Biedermann †	6	1—3
Wunder, W. (Breslau). Brutpflege und Nestbau bei Fischen	7	118—192
— Nestbau und Brutpflege bei Amphibien	8	180—220
— Nestbau und Brutpflege bei Reptilien	10	1—36
— Brutpflege und Nestbau bei Säugetieren	14	280—348
Zimmermann, W. (Tübingen). Die Georeaktionen der Pflanze	2	116—256

II. Sachverzeichnis.

Allelie, Multiple . . . und menschliche Erblehre. (GÜNTHER JUST, Greifswald)	12	221—324
Ammoniak, Nitrate und Nitrite als Stickstoffquellen für höhere Pflanzen. (D. N. PRIANISCHNIKOW, Moskau)	1	407—446
Amphibien, Determinationsproblem. Das Nervensystem und die Sinnesorgane. (O. MANGOLD, Berlin-Dahlem)	3	152—227
Amphibien, Nestbau und Brutpflege. (W. WUNDER, Breslau)	8	180—220
Anwendung von Hormonen bei Nutztieren. Die praktische (WALTER KOCH, München)	15	1—66
Arbeitsteilung bei Insektenstaaten, neuere Untersuchungen über die . . . (A. STEINER, Bern)	10	156—176
Atmung der Schwämme und Coelenteraten. (JOACHIM FRHR. VON LEDEBUR, Neustadt im Schwarzwald)	16	262—291
Atmung der Vögel, Bedeutung der Luftsäcke für die (HANS SCHARNKE, München)	10	177—206
Axolotls, Bedingungen für die Metamorphose des . . . (LORE MARX, Kopenhagen)	11	244—334
Bedeutung der Luftsäcke für die Atmung der Vögel. (HANS SCHARNKE, München)	10	177—206
Bedeutung der Spurenelemente für Ernährung, Wachstum und Stoffwechsel der Pflanzen. (KARL PIRSCHLE, Berlin-Dahlem)	15	67—165
Bedeutung der Vitamine in allgemein biologischer Beziehung. (F. VERZÁR, Basel)	10	101—155
Bedingungen für die Metamorphose des Axolotls. (LORE MARX, Kopenhagen)	11	244—334
Biedermann, W. (H. WINTERSTEIN, Breslau)	6	1—3
Biologie der sog. „tierischen Hypnose“. (FRITZ STEINIGER, Greifswald)	13	348—451
Biologischer Kohlehydratabbau, die chemischen Vorgänge. II. Die oxydoreduktive Phase. (KARL WETZEL, Leipzig)	10	323—565
Blaauwsche Theorie des Phototropismus. (L. BRAUNER, Jena)	2	95—115
Brutpflege und Nestbau der Fische (W. WUNDER, Breslau)	7	118—192
Brutpflege und Nestbau bei Amphibien. (W. WUNDER, Breslau)	8	180—220
Brutpflege und Nestbau bei Reptilien. (W. WUNDER, Breslau)	10	1—36
Brutpflege und Nestbau bei Säugetieren. (W. WUNDER, Breslau)	14	280—348

	Band	Seite
Ciliaten, Das Ciliensystem in seiner Bedeutung für Locomotion und Koordination und Formenbildung mit besonderer Berücksichtigung der ... (BRUNO M. KLEIN, Wien)	8	76—179
Ciliensystem, in seiner Bedeutung für Locomotion und Koordination und Formbildung mit besonderer Berücksichtigung der Ciliaten. (BRUNO M. KLEIN, Wien)	8	76—179
Chemische Vorgänge beim biologischen Kohlehydratabbau. I. Die einleitenden Prozesse der biologischen Zuckerspaltung. (K. WETZEL, Leipzig)	7	404—548
— II. Die oxydoreduktive Phase. (K. WETZEL, Leipzig)	10	323—565
Chordaten, Über den Kreislauf bei den niedersten ... (EMIL VON SKRAMLIK, Jena)	15	166—308
Chromosomenaberrationen, Faktorenkoppelung, Faktorenaustausch und ... beim Menschen. (Nebst einem einleitenden Abschnitt zu Fragen des höheren Mendelismus beim Menschen.) (GÜNTHER JUST, Greifswald)	10	566—624
Chromosomentheorie der Vererbung. (C. STERN, Berlin-Dahlem)	4	205—359
Coelenteraten, Über die Atmung der Schwämme und ... (JOACHIM FRHR. VON LEDEBUR, Neustadt im Schwarzwald)	16	262—291
Crustaceen, Wanderungen bei Decapoden. (H. BALSS, München)	6	305—326
Decapoden, Wanderungen (Crustaceen). (H. BALSS, München)	6	305—326
Determinationsgeschehen bei Insekten mit Ausschluß der frühembryonalen Determination. (DIETRICH BODENSTEIN, Stanford University, Californien)	13	174—234
Determinationsproblem. I. Nervensystem und Sinnesorgane der Seitenlinie unter spezieller Berücksichtigung der Amphibien. (O. MANGOLD, Berlin-Dahlem)	3	152—227
— II. Die paarigen Extremitäten der Wirbeltiere in der Entwicklung. (O. MANGOLD, Berlin-Dahlem)	5	290—404
— III. Das Wirbeltierauge in der Entwicklung und Regeneration. (O. MANGOLD, Berlin-Dahlem)	7	193—403
Diatomeen, Grundlinien einer allgemeinen Ökologie. (R. W. KOLBE, Berlin-Dahlem)	8	221—348
Diffusion Processes. (M. H. JACOBS, Philadelphia)	12	1—160
Elektive Vitalfärbungen. (J. GICKLHORN, Prag)	7	549—685
Entstehung der Variationsbewegungen bei den Pflanzen. (ERWIN BÜNNING, Königsberg i. Pr.)	13	235—347
Erblehre, Multiple Allelie und menschliche ... (GÜNTHER JUST, Greifswald)	12	221—324
Ergebnisse der Symbioseforschung. Übertragungseinrichtungen. (P. BUCHNER, Breslau)	4	1—129
Erregungsvorgang bei höheren Pflanzen. (KARL UMRATH, Graz)	14	1—142
Erregungsvorgang, vergleichende Physiologie. (E. TH. BRÜCKE, Innsbruck)	6	327—425
Erregungsspezifität und Erregungsresonanz. Grundzüge einer Theorie der motorischen Nerventätigkeit auf Grund spezifischer Zuordnung zwischen zentraler und peripherer Erregungsform. (P. WEISS, Wien)	3	1—151
Erscheinung der Heteroploidie, besonders im Pflanzenreich. (F. v. WETTSTEIN, Göttingen)	2	311—356
Ertragsgesetze bei Pflanzen. K. BORESCH, Tetschen-Liebwerd)	4	130—204

	Band	Seite
Erythrocyte, The Permeability of. (M. H. JACOBS, Philadelphia)	7	1—55
Explantation in „vitro“. (KARL BAUER, München)	16	336—512
Extremitäten der Wirbeltiere, Determinationsproblem. (O. MANGOLD, Berlin-Dahlem)	5	290—404
Faktorenkoppelung, Faktorenaustausch und Chromosomenaberrationen beim Menschen. (Nebst einem einleitenden Abschnitt zu Fragen des höheren Mendelismus beim Menschen.) (GÜNTHER JUST, Greifswald)	10	566—624
Fische, Brutpflege und Nestbau. (W. WUNDER, Breslau)	7	118—192
— die Wanderungen. I. Teil. (L. SCHEURING, München)	5	405—691
— 2. Teil	6	4—304
Fische, Physiologie des Zentralnervensystems der . . . (JAN TEN CATE, Amsterdam)	11	335—409
Fischen, Über den Kreislauf bei den . . . (EMIL VON SKRAMLIK, Jena)	11	1—130
Fortschritt der Chromosomentheorie der Vererbung. (C. STERN, Berlin-Dahlem)	4	205—359
Georeaktionen der Pflanzen. (W. ZIMMERMANN, Tübingen)	2	116—256
Geschlechtsbestimmung, Theorie und die zygotischen sexuellen Zwischenstufen. (R. GOLDSCHMIDT, Berlin-Dahlem)	2	554—683
Geschwülste, vergleichende Pathologie. (K. WINKLER, Breslau)	5	692—796
Golgischer Binnenapparat, Ergebnisse und Probleme. (W. JACOBS, München)	2	357—415
Grundlinien einer allgemeinen Ökologie der Diatomeen. (R. W. KOLBE, Berlin-Dahlem)	8	221—348
Halophytenproblem. (O. STOCKER, Bremerhaven)	3	265—353
Harnstoff im Haushalt der Pflanze und seine Beziehung zum Eiweiß. (A. KIESEL, Moskau)	2	257—310
Heteroploidie, Erscheinungen, besonders im Pflanzenreich. (F. v. WETTSTEIN, Göttingen)	2	311—356
Histochemie der quergestreiften Muskelfasern. (W. BIEDERMANN, Jena)	2	416—504
Hormone, Die praktische Anwendung bei Nutztieren. (WALTER KOCH, München)	15	1—66
Hormonfunktionen, Inkretorische Organe und . . . bei den Wirbellosen. (BERTIL HANSTRÖM, Lund)	14	143—224
Hypnose, Die Biologie der sog. „tierischen“ . . . (FRITZ STEINIGER, Greifswald)	13	348—451
Inkretorische Organe und Hormonfunktionen bei den Wirbellosen. (BERTIL HANSTRÖM, Lund)	14	143—224
Insekten, Das Determinationsgeschehen bei . . . mit Ausschluß der frühembryonalen Determination	13	174—234
Insekten, Die Wanderung der. (GOTTFRIED FRAENKEL, Frankfurt a. M.)	9	1—238
Insektenstaaten, neuere Untersuchungen über die Arbeitsteilung bei Insektenstaaten. (A. STEINER, Bern)	10	156—176
Integument der Wirbeltiere, vergleichende Physiologie. (W. BIEDERMANN, Jena)	1	1—342
— Fortsetzung	3	354—541
— Fortsetzung	4	361—680
— Fortsetzung. Hautsekretion	6	427—558

	Band	Seite
JACOBSONSches Organ, Leistung des ... bei den Wirbeltieren. (HERMANN KAHMANN, München)	16	292—335
Kohlehydratabbau, biologischer; die chemischen Vorgänge. I. Die einleitenden Prozesse der biologischen Zuckerspaltung	7	404—548
II. Die oxydoreduktive Phase. (K. WETZEL, Leipzig) .	10	323—565
Kolloidchemie des pflanzlichen Zellkerns in der Ruhe und in der Teilung. (R. SCHAEDE, Breslau).	5	1—28
Kreislauf, Über den ... bei den Fischen (EMIL VON SKRAMLIK, Jena)	11	1—130
Kreislauf, Über den ... bei den niedersten Chordaten. (EMIL VON SKRAMLIK, Jena)	15	166—308
Leben ohne Sauerstoff bei wirbellosen Tieren. (Th. v. BRAND, Hamburg)	10	37—100
Leistung des JACOBSONSchen Organs bei den Wirbeltieren. (HERMANN KAHMANN, München)	16	292—335
Luftsäcke, Bedeutung der Luftsäcke für die Atmung der Vögel. (HANS SCHARNKE, München)	10	177—206
Manoiloff-Reaktion, ihre chemische und physiologische Begründung. (E. SCHRATZ, Berlin-Dahlem)	3	228—264
Membranen, Neuere Ansichten über die Permeabilität von nichtlebenden und lebenden. (B. J. KRIJGSMAN, Buitenzorg, Java)	9	292—357
Mendelismus. Faktorenkopplung, Faktorenaustausch und Chromosomenaberrationen beim Menschen. (Nebst einem einleitenden Abschnitt zu Fragen des höheren Mendelismus beim Menschen.) (GÜNTHER JUST, Greifswald) .	10	566—624
Menschliche Erblehre, Multiple Allelie und ... (GÜNTHER JUST, Greifswald)	12	221—324
Metamorphose des Axolotls, Bedingungen für die ... (LORE MARX, Kopenhagen)	11	244—334
Mikroorganismen, Vitamine und Wachstumsfaktoren bei den ... mit besonderer Berücksichtigung des Vitamin B ₁ . (WILLIAM H. SCHOPFER, Bern)	16	1—172
Milz, mit besonderer Berücksichtigung des vergleichenden Standpunktes. (E. v. SKRAMLIK, Freiburg i. Br.) . . .	2	505—553
Movements of the Retinal Pigment. (G. H. PARKER, Cambridge [Mass.], U. S. A.)	9	239—291
Multiple Allelie und menschliche Erblehre. (GÜNTHER JUST, Greifswald)	12	221—324
Muskelfasern, Histologie der quergestreiften. (W. BIEDERMANN, Jena).	2	416—505
Nervensystem und Sinnesorgane, Determinationsproblem. (O. MANGOLD, Berlin-Dahlem)	3	152—227
Nestbau und Brutpflege bei Amphibien. (W. WUNDER, Breslau)	8	180—220
Nestbau und Brutpflege bei Reptilien. (W. WUNDER, Breslau)	10	1—36
Nestbau und Brutpflege bei Säugetieren. (W. WUNDER, Breslau)	14	280—348
Neuere Ansichten über die Permeabilität von nichtlebenden und lebenden Membranen. (B. J. KRIJGSMAN, Buitenzorg, Java)	9	292—357

	Band	Seite
Neuere Untersuchungen über die Arbeitsteilung bei Insektenstaaten. (A. STEINER, Bern)	10	156—176
Nitrate und Nitrite, Ammoniak als Stickstoffquelle für höhere Pflanzen. (D. N. PRIANISCHNIKOW, Moskau) . .	1	407—446
Ökologie, Grundlinien einer allgemeinen, . . . der Diatomeen. (R. W. KOLBE, Berlin-Dahlem)	8	221—348
Pathologie, vergleichende, der Geschwülste. (W. WINKLER, Breslau)	5	692—796
Permeabilität von nichtlebenden und lebenden Membranen. (B. J. KRIJGSMAN, Buitenzorg, Java)	9	292—357
Permeability of the Erythrocyte. (M. H. JACOBS, Philadelphia)	7	1—55
Pflanze, Georeaktion. (W. ZIMMERMANN, Tübingen)	2	116—256
— der Harnstoff im Haushalt der Pflanzen und seine Beziehung zum Eiweiß. (A. KIESEL, Moskau)	2	257—310
Pflanzen, Ammoniak, Nitrate und Nitrite als Stickstoffquellen. (D. N. PRIANISCHNIKOW, Moskau)	1	407—446
Pflanzen, Die Bedeutung der Spurelemente für Ernährung, Wachstum und Stoffwechsel der . . . (KARL PIRSCHLE, Berlin-Dahlem)	15	67—165
Pflanzen, die Entstehung der Variationsbewegungen bei den . . . (ERWIN BÜNNING, Königsberg i. Pr.)	13	235—347
— Ertragsgesetze. (K. BORESCH, Tetschen-Liebwerd) . .	4	130—204
Pflanzen, Der Erregungsvorgang bei höheren Pflanzen. (KARL UMRATH, Graz)	14	1—142
Pflanzen, Phototropismus und Wachstum. I. (H. G. DU BUY und E. NUERNBERGK, Utrecht)	9	358—544
Pflanzen, Phototropismus und Wachstum. II. (H. G. DU BUY und E. NUERNBERGK, Utrecht)	10	207—322
Pflanzen, Phototropismus und Wachstum der . . . III. (H. G. DU BUY und E. L. NUERNBERGK, Utrecht)	12	325—543
Pflanzen, das Winden und Ranken. (H. GRADMANN, Erlangen)	5	166—218
— Reizleitungsproblem. (P. STARK, Breslau)	2	1—94
— Saftsteigen. (F. BACHMANN, Leipzig)	1	343—379
Pflanzenreich, die Erscheinungen der Heteroploidie. (F. v. WETTSTEIN, Göttingen)	2	311—356
Pflanzliche Transpiration. I. Teil. (A. SEYBOLD, Köln a. Rh.)	5	29—165
— II. Teil	6	559—731
Pflanzlicher Zellkern, die Kolloidchemie. (R. SCHAEDE, Breslau)	5	1—28
Pflanzenzelle, das Verhalten gegen Salze. (H. KAHO, Tartu [Dorpat])	1	380—406
Phototropismus, die Blaauwsche Theorie. (L. BRAUNER, Jena)	2	95—115
Phototropismus und Wachstum der Pflanzen. I. (H. G. DU BUY und E. NUERNBERGK, Utrecht)	9	358—544
Phototropismus und Wachstum bei Pflanzen. II. (H. G. DU BUY und E. NUERNBERGK, Utrecht)	10	207—322
Phototropismus und Wachstum der Pflanzen. III. (H. G. DU BUY und E. L. NUERNBERGK, Utrecht)	12	325—543
Physiologie der schwefelspeichernden und schwefelfreien Purpurbakterien. (WERNER BAVENDAMM, Dresden-Tharandt)	13	1—53
Physiologie des Zentralnervensystems der Fische. (JAN TEN CATE, Amsterdam)	11	335—409

	Band	Seite
Physiologie des Zentralnervensystems der Vögel. (J. TEN CATE, Amsterdam)	13	93—173
Physiologie des Zentralnervensystems der Reptilien. (J. TEN CATE, Amsterdam)	14	225—279
Physiologie, vergleichende, des Erregungsvorganges. (E. TH. BRÜCKE, Innsbruck)	6	327—425
— vergleichende, des Integuments der Wirbeltiere. (W. BIEDERMANN, Jena)	1	1—342
— vergleichende, des Integuments der Wirbeltiere. (W. BIEDERMANN, Jena) (Fortsetzung)	3	354—541
— Fortsetzung	4	361—680
— Fortsetzung. Hautsekretion	6	427—558
Protoplasma, Raumaufbau des . . . (G. F. GAUSE, Moskau)	13	54—92
Protozoen, der Stoffwechsel der . . . (TH. VON BRAND, Kopenhagen)	12	161—220
Purpurbakterien. Die Physiologie der schwefelspeichernden und schwefelfreien . . . (WERNER BAVENDAMM, Dresden-Tharandt)	13	1—53
Ranken und Winden der Pflanzen. (H. GRADMANN, Erlangen)	5	168—218
Raumaufbau des Protoplasmas. (G. F. GAUSE, Moskau) . .	13	54—92
Reizleitungsproblem bei den Pflanzen im Lichte neuerer Erfahrungen. (P. STARK, Breslau)	2	1—94
Reptilien, Nestbau und Brutpflege. (W. WUNDER, Breslau)	10	1—36
Reptilien, Physiologie des Zentralnervensystems der . . . (J. TEN GATE, Amsterdam)	14	225—279
Retinal Pigment, The Movements of. (G. H. PARKER, Cambridge [Mass.], U. S. A.)	9	239—291
Saftsteigen der Pflanzen. (F. BACHMANN, Leipzig)	1	343—379
Salze, das Verhalten der Pflanze gegen. (H. KAHO, Tartu [Dorpat])	1	380—406
Sauerstoff als ökologischer Faktor. (JOACHIM FRHR. VON LEDEBUR, Neustadt im Schwarzwald)	16	173—261
Säugetiere, Brutpflege und Nestbau. (W. WUNDER, Breslau)	14	280—348
Säugetiere, ihre Wanderungen. (M. HILZHEIMER, Berlin) .	5	219—289
Schwämme, Über die Atmung der . . . und Coelenteraten. (JOACHIM FRHR. VON LEDEBUR, Neustadt im Schwarzwald)	16	262—291
Schweben der Wasserorganismen (WERNER JACOBS, München)	11	131—218
Schwefelspeichernde und schwefelfreie Purpurbakterien. Die Physiologie. (WERNER BAVENDAMM, Dresden-Tharandt)	13	1—53
Sozialpsychologie der Vögel. (D. KATZ, Rostock)	1	447—478
Spurenelemente, Die Bedeutung der . . . für Ernährung, Wachstum und Stoffwechsel der Pflanzen. (KARL PIRSCHLE, Berlin-Dahlem)	15	67—165
Stoffwechsel der Protozoen. (TH. VON BRAND, Kopenhagen)	12	161—220
Symbioseforschung, Übertragungseinrichtungen. (P. BUCHNER, Breslau)	4	1—129
Theorie der motorischen Nerventätigkeit. Erregungsspezifität und Erregungsresonanz. (P. WEISS, Wien)	3	1—151
Transpiration, pflanzliche. I. Teil. (A. SEYBOLD, Köln a. Rh.)	5	29—165
— II. Teil	6	559—731
Über den Kreislauf bei den Fischen. (EMIL VON SKRAMLIK, Jena)	11	1—130

	Band	Seite
Über die Atmung der Schwämme und Coelenteraten. (JOACHIM FRHR. VON LEDEBUR, Neustadt im Schwarzwald)	16	262—291
Übertragungseinrichtungen, Ergebnisse der Symbioseforschung. (P. BUCHNER, Breslau)	4	1—129
Variationsbewegungen, die Entstehung bei den Pflanzen. (ERWIN BÜNNING, Königsberg i. Pr.)	13	235—347
Vergleichende Pathologie der Geschwülste. (K. WINKLER, Breslau)	5	692—796
Vergleichende Betrachtung der pathologischen Anatomie und Physiologie des Zentralnervensystems. (L. SINGER, München)	7	56—117
— Physiologie des Integuments der Wirbeltiere. (W. BIEDERMANN, Jena)	I	1—342
— Fortsetzung	3	354—541
— —	4	361—680
— — Hautsekretion	6	427—558
— Physiologie des Erregungsvorganges. (E. TH. BRÜCKE, Innsbruck)	6	327—426
Vergleichende Untersuchung des Verhaltens der Wirbeltiere. (WERNER FISCHEL, Münster [Westfalen])	II	219—243
Verhalten der Pflanzenzelle gegen Salze. (H. KAHO, Tartu [Dorpat])	I	380—406
Verhaltens der Wirbeltiere, Vergleichende Untersuchung des ... (WERNER FISCHEL, Münster [Westfalen])	II	219—243
Vitalfärbungen, elektive. (J. GICKLHORN, Prag)	7	549—685
Vitamine, Bedeutung der Vitamine in allgemein biologischer Beziehung. (F. VERZÁR, Basel)	10	101—155
Vitamine und Wachstumsfaktoren bei den Mikroorganismen, mit besonderer Berücksichtigung des Vitamins B ₁ . (WILLIAM H. SCHOFFER, Bern)	16	1—172
Vögel, die Bedeutung der Luftsäcke für die Atmung . . . (HANS SCHARNKE, München)	10	177—206
Vögel. Physiologie des Zentralnervensystems. (J. TEN CATE, Amsterdam)	13	93—173
Vögel, Sozialpsychologie. (D. KATZ, Rostock)	I	447—478
Wachstum und Phototropismus der Pflanzen. I. (H. G. DU BUY und E. NUERNBERGK, Utrecht)	9	358—544
Wachstum und Phototropismus der Pflanzen. II. (H. G. DU BUY und E. NUERNBERGK, Utrecht)	10	207—322
Wachstum, Phototropismus und ... der Pflanzen. III. (H. G. DU BUY und E. L. NURNBERGK, Utrecht)	12	325—543
Wachstumsfaktoren und Vitamine bei den Mikroorganismen, mit besonderer Berücksichtigung des Vitamins B ₁ . (WILLIAM H. SCHOFFER, Bern)	16	1—172
Wanderung bei Decapoden (Crustaceen). H. BALSS, München)	6	307—326
— der Säugetiere. (M. HILZHEIMER, Berlin)	5	219—289
Wanderungen der Fische. I. Teil. (L. SCHEURING, München)	5	405—691
— — II. Teil	6	4—304
— der Vögel. (H. WACHS, Rostock)	I	479—637
Wanderungen der Insekten. (GOTTFRIED FRAENKEL, Frankfurt a. M.)	9	1—238
Wasserorganismen, Das Schweben der ... (WERNER JACOBS, München)	II	131—218

	Band	Seite
Winden und Ranken der Pflanzen. (H. GRADMANN, Erlangen)	5	168—218
Winterschlaf, Der . . . (D. FERDMANN und O. FEINSCHMIDT, Charkow)	8	1—75
Wirbellose, Inkretorische Organe und Hormonfunktionen bei den . . . (BERTIL HANSTRÖM, Lund)	14	143—224
Wirbellose Tiere, das Leben ohne Sauerstoff bei. (Th. v. BRAND, Hamburg)	10	37—100
Wirbeltiere, Leistung des JACOBSONSchen Organs bei den . . . (HERMANN KAHMANN, München)	16	292—335
Wirbeltiere, paarige Extremitäten. Determinationsproblem. (O. MANGOLD, Berlin-Dahlem)	5	290—404
Wirbeltiere, Vergleichende Physiologie des Integuments. (W. BIEDERMANN, Jena)	1	1—342
— Fortsetzung	3	354—541
— Fortsetzung	4	361—680
— Fortsetzung. Hautsekretion	6	427—558
Wirbeltiere, Vergleichende Untersuchung des Verhaltens der . . . (WERNER FISCHEL, Münster [Westfalen])	11	219—243
Wirbeltierauge in der Entwicklung und Regeneration. Determinationsproblem. (O. MANGOLD, Berlin-Dahlem)	7	193—403
Zellkern, pflanzlicher, die Kolloidchemie. (R. SCHAEDE, Breslau)	5	1—29
Zentralnervensystems der Fische, Physiologie des . . . (JAN TEN CATE, Amsterdam)	11	335—409
Zentralnervensystem der Vögel. Physiologie. (J. TEN CATE, Amsterdam)	13	93—173
Zentralnervensystem, vergleichende Betrachtung der pathologischen Anatomie und Physiologie. (L. SINGER, München)	7	56—117
Zentralnervensystem, Physiologie des . . . der Reptilien. (J. TEN CATE, Amsterdam)	14	225—279
Zuckerspaltung, die einleitenden Prozesse der biologischen. Kohlehydratabbau. (K. WETZEL, Leipzig)	7	404—548
Zygotische sexuelle Zwischenstufen und die Theorie der Geschlechtsbestimmung. (R. GOLDSCHMIDT, Berlin-Dahlem)	2	554—683