

# ACTA BIOLOGICA ACADEMIAE SCIENTIARUM HUNGARICAE

ADIUVANTIBUS

A. ÁBRAHÁM, B. FALUDI, B. GYŐRFFY, L. HARANGHY, I. SZÖRÉNYI,  
J. SZENTÁGOTHAI, I. TÖRÖ

REDIGIT

R. MAUCHA

TOMUS VII

FASCICULUS 1



MAGYAR TUDOMÁNYOS AKADÉMIA  
BUDAPEST, 1956

ACTA BIOL. HUNG.

# ACTA BIOLOGICA

## A MAGYAR TUDOMÁNYOS AKADÉMIA BIOLÓGIAI KÖZLEMÉNYEI

SZERKESZTŐSÉG: BUDAPEST, IX., TŰZOLTÓ-Ú. 58. KIADÓHIVATAL: BUDAPEST, V., ALKOTMÁNY Ú. 21.

Az *Acta Biologica* orosz, francia, angol és német nyelven közöl értekezéseket a biológia köréből.

Az *Acta Biologica* változó terjedelmű füzetekben jelenik meg, több füzet alkot egy kötetet.

A közlésre szánt kéziratok, géppel írva, a következő címre küldendők :

*Acta Biologica* szerkesztősége : Budapest, IX., Tűzoltó u. 58.

Ugyanerre a címre küldendő minden szerkesztőségi és kiadóhivatali levelezés.

Az *Acta Biologica* előfizetési ára kötetenként belföldre 80 forint, külföldre 110 forint.

Megrendelhető a belföld számára az Akadémiai Kiadó-nál (Budapest, V., Alkotmány utca 21. Bankszámla 05-915-111-44), az Akadémiai Könyvesboltban (Budapest, V., Váci utca 22.), a külföld számára a „Kultúra” Könyv és Hírlap Külkereskedelmi Vállalatnál (Budapest, VI., Sztálin út 21. Bankszámla : 43-790-057-181), vagy külföldi képviseleteinél és bizományosainál.

---

«*Acta Biologica*» публикуют трактаты из области биологии на русском, французском, английском и немецком языках.

«*Acta Biologica*» выходит отдельными выпусками разного объема. Несколько выпусков составляют один том.

Предназначенные для публикации рукописи (в напечатанном на машинке виде) следует направлять по адресу :

*Acta Biologica*, Budapest, IX., Tűzoltó u. 58.

По этому же адресу направлять всякую корреспонденцию для редакции и администрации.

Подписьная цена «*Acta Biologica*» — 110 форинтов за том. Заказы принимает предприятие по внешней торговле книг и газет «*Kultúra*» (Budapest, VI., Sztálin út 21. Текущий счет № 43-790-057-181) или его заграничные представительства и уполномоченные.

## I N D E X

<i>Jámbor, B.</i> — <i>Kiss, J.</i> : Determination of hydroxylamine in plant materials.....	1
<i>Szabó, G.</i> — <i>Vályi-Nagy, T.</i> : Studies on the resistance to streptomycin of <i>Streptomyces griseus</i> .....	25
<i>Gere, G.</i> : Investigations into the laws governing the growth of <i>Hyphantria cunea Drury</i> caterpillars .....	43
<i>Párducz, B.</i> : Reizphysiologische Untersuchungen an Ziliaten. V. Zum physiologischen Mechanismus der sog. Fluchtreaktion und der Raumorientierung .....	73
<i>Haranghy, L.</i> : Wirkung des 3,4-Benzopyrens auf Süßwassermuscheln.....	101
<i>Kormos, J.</i> — <i>Kormos, K.</i> : Neue Untersuchungen über den Geschlechtsdimorphismus der Prodiscophryen .....	109
<i>Maucha, R.</i> : In memoriam <i>Nándor Gimesi</i> .....	129
<i>Pozsár, B. I.</i> : The scientific works of <i>Nándor Gimesi</i> .....	131
<i>Gimesi, N. I.</i> — <i>Pozsár, B. I.</i> : Physiological effect of heat stimulus on the germination of light- and dark-sensitive seeds .....	135
<i>Gimesi, N. I.</i> — <i>Pozsár, B. I.</i> : The natural vacuolation of chromoplasts.....	153
<i>Frenyó, V.</i> : Die Rolle der Wurzel in den Frühphasen der Entwicklung.....	161
<i>Sárkány, S.</i> — <i>Percs, E.</i> : Histogenetrical observations in the stem tip of <i>Papaver somniferum L.</i>	183
<i>Szemes, G.</i> : Quantitative Analyse der Benthos-Bacillariophyceen in den Quellengebieten von Tapoleafő .....	203
<i>Hegedüs, Á.</i> : Histogenetische Untersuchungen am Sprossvegetationskegel der Weinrebe	257
<i>Maróti, M.</i> : The change in the cell number and in the nucleic acid content of seedlings..	277
<i>Fridvalszky, L.</i> : Beiträge zur Frage der Organisierung der Blattepidermis bei <i>Allium cepa L.</i>	291
<i>Balázs, O.</i> : Untersuchungen über die Atmung der Pflanzen. I. Elektrometrisches Verfahren zur kontinuierlichen Messung des während der Atmung verbrauchten Sauerstoffs	301
<i>Farkas, G. L.</i> : Some notes on the metabolic interactions between host and parasite.....	315
<i>Garay, A.</i> : Matières spéciales jouant un rôle dans les processus d'infection des plantes, particulièrement en ce qui concerne l'ergot du seigle ( <i>Claviceps purpurea</i> ) .....	325
<i>Pozsár, B. I.</i> : Chloroplast denucleination due to the effect of <i>Abutilon</i> virus.....	337
<i>Kovács, E.</i> — <i>Matkovics, B.</i> : Veränderung der Katalaseaktivität in <i>Streptomyces griseus</i> -Kulturen.....	343
<i>Dvihally, Zs.</i> — <i>Ponyi, J.</i> : Charakterisierung der Natronwässer in der Umgebung von Kistelek auf Grund ihrer chemischen Zusammensetzung und ihrer Crustacea-Fauna	349
<i>Kormos, J.</i> — <i>Kormos, K.</i> : Determination in der Entwicklung der Suktoren. I. Die Determination der Stelle der Embryoorganisierung.....	365
<i>Kormos, J.</i> — <i>Kormos, K.</i> : Die Ontogenese der Protozoen.....	385
<i>Maácz, G. J.</i> : Über die Blattepidermis von <i>Ginkgo biloba L.</i> .....	403
<i>Csaba, Gy.</i> — <i>Rappay, Gy.</i> : New data regarding the regulation of the RES of the liver by the central nervous system.....	411
<i>Bierbauer, J.</i> : Untersuchungen über die Regeneration und Histologie von <i>Helix pomatia</i>	419
<i>Jordanov, J.</i> : Gewebezüchtung an der Oberfläche des Hühnereidotters auf der Dotterhaut	433
<i>Felföldy, L. J. M.</i> : Experiments on the desiccation rate in leaves of the same plant....	443



INDEX AUTORUM

**B**

- Balázs, O. .... 301  
 Bierbauer, J. .... 419

**C**

- Csaba, Gy. .... 411

**D**

- Dvihally, Zs. .... 349

**F**

- Farkas, G. L. .... 315  
 Felföldy, L. J. M. .... 443  
 Frenyó, V. .... 161  
 Fridvalszky, L. .... 291

**G**

- Garay, A. .... 325  
 Gere, G. .... 43  
 Gimesi, N. I. .... 135, 153

**H**

- Haranghy, L. .... 101  
 Hegedüs, Á. .... 257

**J**

- Jámbor, B. .... 1  
 Jordanov, J. .... 433

**K**

- Kiss, J. .... 1  
 Kormos, J. .... 109, 365, 385  
 Kormos, K. .... 109, 365, 385  
 Kovács, E. .... 343

**M**

- Maácz, G. J. .... 403  
 Maróti, M. .... 227  
 Matkovics, B. .... 343  
 Maucha, R. .... 129

**P**

- Párducz, B. .... 73  
 Percs, E. .... 183  
 Ponyi, J. .... 349  
 Pozsár, B. I. .... 131, 135, 153, 337

**R**

- Rappay, Gy. .... 411

**S**

- Sárkány, S. .... 183  
 Szabó, G. .... 25  
 Szemes, G. .... 203

**V**

- Vályi-Nagy, T. .... 25



# ACTA BIOLOGICA ACADEMIAE SCIENTIARUM HUNGARICAE

ADIUVANTIBUS

A. ÁBRAHÁM, B. FALUDI, B. GYŐRFFY, L. HARANGHY,  
J. SZENTÁGOTHAI, I. SZÖRÉNYI, I. TÖRÖ

REDIGIT  
R. MAUCHA

TOMUS VII



1957

ACTA BIOL. HUNG.



# DETERMINATION OF HYDROXYLAMINE IN PLANT MATERIALS

B. JÁMBOR and J. KISS

INSTITUTE OF PLANT PHYSIOLOGY, EÖTVÖS LORÁND UNIVERSITY, BUDAPEST (DIRECTOR: B. JÁMBOR)

(Received July 20, 1955)

## Summary

The method of BLOM and that of LEMOIGNE for the determination of hydroxylamine have been subjected to a critical study.

It has been found that diazotization should be carried out in darkness.

The optimal pH of the first and second phase of BLOM's reaction is 2,5.

The presence of vitamin C, phenols, acetone, or other ketones, interferes with the reaction, and if the plant contains them in appreciable quantities, direct determination of hydroxylamine is only possible at a loss.

It has been possible to establish the conditions optimal for the application of LEMOIGNE's method; if adhered to, they yield quantitative results, provided the solution is a pure one.

Using plant materials in LEMOIGNE's method, about one tenth of the interfering phenols has been found to distill with the hydroxylamine, and attempts at preventing this by means of alkalization have failed.

In this manner, even though the conditions found to be optimal are duly observed, there is bound to be a more or less substantial decrease in recovery. The proposition, therefore, is to add to a parallel sample a known quantity of hydroxylamine and to compute from the results of the two determinations the so-called loss coefficient.

Unless the loss due to the interfering substances is 100 per cent, the method proposed allows of a reproducible determination of the actual hydroxylamine contents, accurate to within 10 per cent.

Applied to different plants and bleeding saps the determinations made with our method generally yielded negative results, except for plants of reduced metabolism (stored plants or plants harvested in the winter).

## Introduction

It is common knowledge that nitrate is one of the most potent sources of nitrogen for our cultivated plants. It is built into the proteins by passing through a reductive process, in which hydroxylamine is assumed to be one of the intermediate stages. Innumerable investigations notwithstanding, the physiological role of hydroxylamine still awaits clarification, because it is a highly reactive compound and, probably, even if it is present in the plant as free hydroxylamine, it is so for a short period only. From this it follows that very exact and reliable methods are required for its determination.

For about the last 25 years BLOM's reaction has been used exclusively for the demonstration of hydroxylamine in plant materials [1]; by ENDRES [3] it has been applied as a quantitative method. The essence of this reaction is that to the solution containing hydroxylamine sulphuric acid and iodine are

added, whereupon the hydroxylamine oxidizes to nitrite, which with the sulphanilic acid forms a diazonium salt; on eliminating the iodine with the aid of thiosulphate and adding  $\alpha$ -naphthylamine to the solution, a cyclamen-coloured azo dye is obtained, the optical density of which, under suitable conditions, is proportionate to the hydroxylamine content. Even in a pure solution, this method yields no quantitative and reproducible results, wherefore the optimal conditions for the reaction had to be found to render it quantitative. This proved possible, and the method was then tried with plant materials. Because of the interfering materials present in the plants, nothing as a rule was recovered of the hydroxylamine which had been added in measured quantities to the substances tested. For the separation of the hydroxylamine from the interfering materials a distillation method had been worked out by LEMOIGNE and his collaborators [8], and was tried out by us. The recovery it yielded was not more than about 10 per cent even for a pure solution.

This paper is primarily concerned with thorough studies of the controlled conditions of this method, the factors interfering with it, the mode of their elimination, all undertaken with a view to improving the method to an extent where small amounts of hydroxylamine can be determined reliably, despite the presence of interfering factors in the plant materials.

### Blom's modified reaction

The starting point of our investigations was BLOM's reaction for plant materials as modified by several authors [6, 7, 8]. In a 50-ml volumetric flask, to a few ml of a solution containing 1 to 8  $\gamma$  of  $\text{NH}_2\text{OH}$  nitrogen 2 ml of sodium acetate, 1 ml of a solution of 1 g of sulphanilic acid in 100 ml of 30% acetic acid, and 0,5 ml of an iodine solution (1,3 g of  $\text{I}_2$  and 100 ml of glacial acetic acid) were added and allowed to stand for 10 minutes. By the dropwise addition of 0,1 N sodium thiosulphate the excess iodine was then discoloured, made up to 48 ml with distilled water, and 1 ml of a solution of 0,25 g of  $\alpha$ -naphthylamine in 100 ml of 30-per cent acetic acid was added. Thereafter the flask was filled to the mark with water, and 15 minutes later the extinction due to the gradually appearing red colouration was measured with the use of an S 53 filter. For comparison a standard curve of nitrite or hydroxylamine was used.

### Lemoigne's method

The nitrite in the fluid to be tested was decomposed (by boiling with sulphanilic acid or, in the cold way, using 5-per cent hydrochloric acid and 10-per cent urea), the pH adjusted to about 5 or 6 with sodium

acetate, and on adding 10-per cent acetone to it, the solution was subjected to fractional distillation. The distillate being hydrolyzed the acetone was removed from it by the addition of 10 per cent hydrochloric acid, and the solution boiled for 30 seconds, whereafter it was brought to a pH of 2,5 with sodium acetate; BLOM's reaction was then applied.

Table 1

*Determinations of hydroxylamine with BLOM's method described in the literature*

Weighed in $\text{NH}_2\text{OH}-\text{N}$ , in $\gamma$	$\text{NH}_2\text{OH}-\text{N}$ found, in $\gamma$			
	I	II	III	IV
1,6	0,6	0,6	1,2	1,2
3,2	1,5	1,5	1,0	1,7
4,8	2,5	2,5	2,3	2,5
6,4	3,3	3,1	3,1	3,0
8,0	3,3	3,3	3,5	3,5

### Study of Blom's method in pure solution

a) Table 1 shows that generally not more than about half of the hydroxylamine was recovered in the form of nitrite. (The results were determined from standard curves plotted for nitrite.) It merits attention that the results of determinations made at different times differed from one another.

The assumption having been that the inaccurate results obtained with the initial method were due to the simultaneous interference of several unknown factors, time-consuming explorative tests had to be carried out before the experimental conditions required to achieve satisfactory results could be found. Instead of describing these tests in detail, it is proposed to report only the results obtained with the method elaborated by us.

b) *The method that has been found suitable.* The pH of the solution to be tested containing from 0 to 8  $\gamma$  of  $\text{NH}_2\text{OH}-\text{N}$ , is adjusted to about 2,5, and 1 ml of sulphanilic acid and, in darkness (!), 0,5 ml of iodine are added. Having been allowed to stand for 15 minutes in the dark, the solution is discoloured, in the light, by dropwise addition of sodium thiosulphate, and the test concluded as described under a). In the following this method will be referred to as BLOM's improved method.

c) *Effect of light.* Fig. 1 shows that while with the first step of BLOM's reaction carried out in the light, recovery decreases in dependence on intensity by from 0 to 80 per cent, the second step is hardly sensitive to light. The practical outcome of the first step's sensitivity is that in the laboratory at good

daylight illumination (1000 luxes) a 40-per cent loss, and at good evening illumination (100 luxes) a 10-per cent loss arises if the first step is not carried out in the dark.

Concerning the effect of light on the reaction the following has been established : (i) light exerts a substantial effect on the reactions of the first step only,

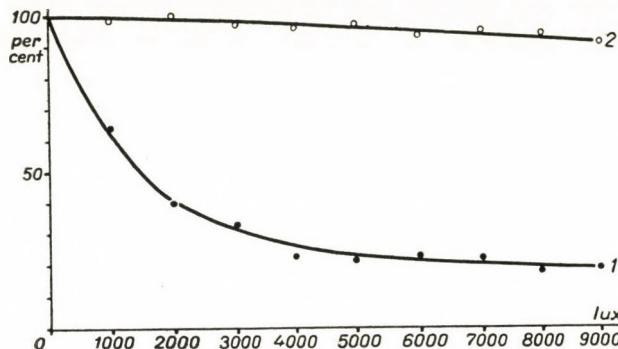


Fig. 1. Recoveries from 8  $\gamma$  of  $(\text{NH}_2\text{OH})\text{-N}$  obtained with the method described on p. 3, expressed as percentages of the hydroxylamine added. Curves 1 and 2, respectively, indicate that the first and second steps were carried out in light of various intensity, and the second and first steps in the dark

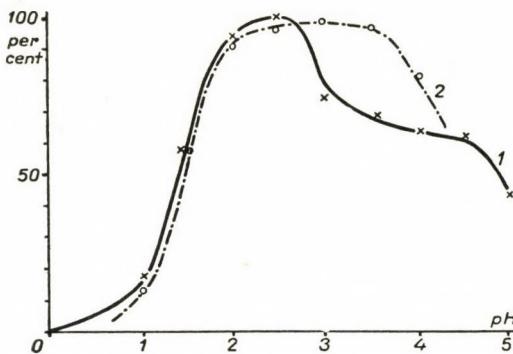


Fig. 2. Recoveries from 8  $\gamma$  of  $(\text{NH}_2\text{OH})\text{-N}$  obtained with the method described on p. 3, expressed as percentages of the hydroxylamine added. Curves 1 and 2, respectively, indicate that the first and second steps were carried out at varying pH values, and the second and first steps at pH 2.5

while on the diazonium salt already formed this effect is less. (ii) If instead of hydroxylamine the reaction is performed with nitrite in the presence of iodide ions, light is found to be of the same effect. This indicated that what takes place is not a diversion of the oxidation of the hydroxylamine from its course, but the so-called SANDMEYER [5] reaction (decomposition of the diazonium salt upon the action of the iodide ions accompanied by the formation of idone ben-

zole), a process catalysed by light. None of the descriptions of BLOM's method makes mention of this effect of light [1, 2, 3, 7, 8, 11].

d) *Effect of pH.* Fig. 2 shows the results obtained with the two steps of the reaction carried out at different pHs. It can be seen that the pH of the medium is of decisive effect, and that the first step is particularly sensitive to it. It should be noted that the pH was only changed either in the first (curve I) or in the second step (curve II), and that, at the same time, the second and first step, respectively, was performed uniformly at a pH of 2.5. The curves are largely similar to those obtained in studying the determination of nitrites

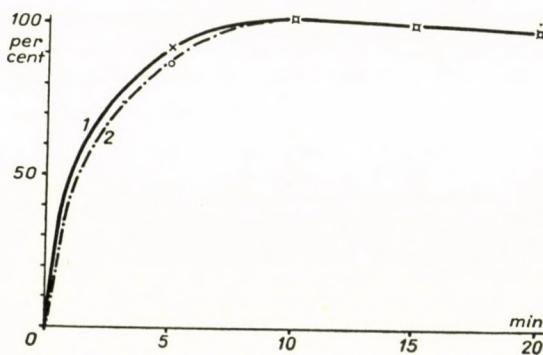


Fig. 3. Recoveries from 8  $\gamma$  of  $(\text{NH}_2\text{OH})\text{-N}$  obtained with the method described on p. 3, expressed as percentages of the hydroxylamine added. Curves 1 and 2, respectively, indicate that the first and second steps were carried out with varying diazotization times, and the second and first steps with coupling times of 15 minutes

[6], but show of a lesser sensitivity to pH. With hydroxylamine, this sensitivity is very marked; for instance, on adjusting the solution in the first step to pH 1.8 or 3, instead of 2.5, recovery will be less by 30 per cent. The prescriptions for determinations found in the literature do not always secure the control of the pH between narrow limits; STEWARD and STREET [11] are the only authors to point to the need of standardization of the experimental conditions in quantitative work.

It should still be mentioned that by our experience the pronounced sensitivity to pH in the first step can be substantially diminished by allowing more than 15 minutes, e. g., half an hour, for the reaction.

e) *Time allowed for reaction.* Fig. 3 shows that, provided the prescriptions under b) are adhered to, the first and second steps are completed as early as in 10 minutes, and up to 90 per cent even in the first 5 minutes. In this experiment, too, the principle was followed that a change should be made in one of the two steps only, wherefore the reaction time for the other was always 15 minutes. Some authors' insistence that the first and second steps should be carried out simultaneously [4] seems to be without justification.

In serial experiments it sometimes occurred that after the addition of the sodium thiosulphate an hour or two had to be spent in adjusting the pH and making measurements before the  $\alpha$ -naphthylamine was added. Whenever this was the case, recovery was found to be low, and so the phenomenon had to be studied more closely. Following the diazotization reaction and the discolouration of iodine by thiosulphate, the reaction mixture was left to stand in light of various intensities up to 400 luxes for from 0 to 4 hours before the  $\alpha$ -naphthylamine was added. The recoveries obtained under these conditions are presented in Fig. 4, in which the curve is plotted on an average of the re-

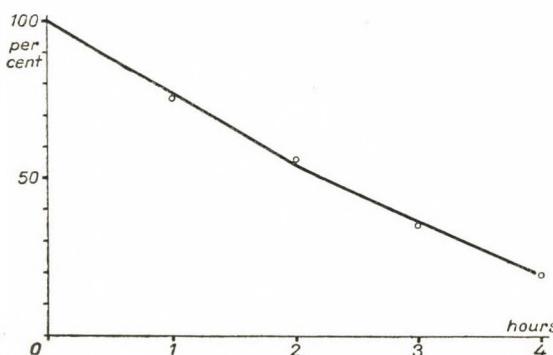


Fig. 4. Recoveries from 8  $\gamma$  of  $(\text{NH}_2\text{OH})\text{-N}$  obtained with the method described on p. 3, expressed as percentages of the hydroxylamine added. Effect upon recoveries of the time allowed to pass between the discolouration of the iodine and the addition of  $\alpha$ -naphthylamine

sulting data, since light had exerted no perceptible effect. It needs to be mentioned that particularly after standing for a longer period of time the values obtained showed substantial dispersion.

From what has been said above it follows that to the reaction mixture the  $\alpha$ -naphthylamine must be added immediately after the discolouration of the iodine by the thiosulphate, since a delay of one hour diminishes recovery by about one third. Seeing that this phenomenon fails to set in if the solution is allowed to stand after the addition of iodine but prior to discolouration, it seems obvious that the diminution in recovery is due either to the excess of thiosulphate or to the compound arising at the latter's reaction with iodine. We refrain from enlarging on this point, since the method permits of avoiding the standing of the solution with thiosulphate for a protracted period of time. Most probable is that between the iodide forming on discolouration and the diazonium salt the SANDMEYER [5] reaction takes place, which even without the action of light effects the decomposition of the latter.

f) The effect exerted by the amount of iodine on recovery is shown in Fig. 5. With 0,2 ml of iodine added, the reaction is practically complete in about

15 minutes. This amount of iodine is about seven times the equivalent of the 8 γ of  $\text{NH}_2\text{OH-N}$  weighed in.

g) *Summary of the effect of factors influencing recovery.* In order to obtain a comprehensive picture of the size of the errors consequent on the neglect of close adherence to the experimental factors studied, Table 2 lists the diminutions in recovery due to the loose handling of individual factors. When working with one of the methods known from the literature it is quite unavoidable to commit the one or the other of the errors in this list, but it is a matter of mere

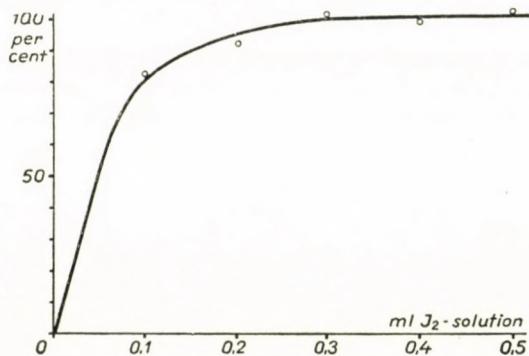


Fig. 5. Recoveries from 8 γ of  $(\text{NH}_2\text{OH})\text{-N}$  obtained with the method described on p. 3, expressed as percentages of the hydroxylamine added. Effect of iodine quantities on recoveries

chance which error will be perpetrated and to what extent. With a wrong choice of two or more factors the loss can easily be a total one.

Table 2  
*Loss of recovery due to some factors influencing the determination of hydroxylamine*

Derivation from the prescription recommended	Approximate loss in per cent
1. The first step of the reaction is carried out in diffuse light (about 2000 luxes) .....	55
2. The first or second step of the reaction is carried out at pH 1 .....	80—90
3. The first step of the reaction is carried out at pH 4 .....	35
4. The first or second step of the reaction is allowed 5 minutes only .....	20
5. The solution is allowed to stand for 30 minutes before the $\alpha$ -naphthylamine is added .....	15
6. In the first step of the reaction only 0.1 ml of iodine is added .....	25

h) In Fig. 6 is shown the standard curve obtained with BLOM's improved method as recommended by us. The extinction values agree exactly with those

obtained for nitrite [6], indicating that if carried out as suggested the reaction is quantitative.

#### Blom's improved method used for determinations in plant materials

a) *Effect of pH at trituration.* As regards the mode of action of the unknown factors interfering with direct determinations in plant materials there were two angles from which to approach the problem. One assumption was that on trituration certain individual compounds in the plant reacted with the hydroxylamine and so caused part of it to disappear. The other probability was that the interferences were due to the reaction of some compounds in the

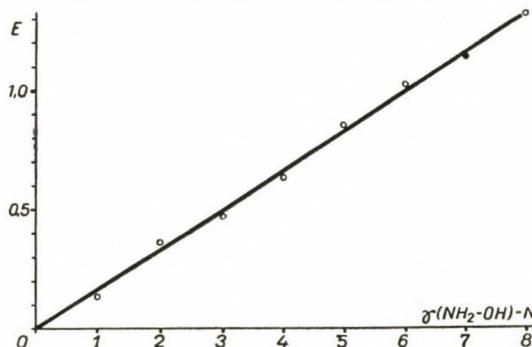


Fig. 6. Standard curve for  $(NH_2OH)$  determinations. End volume of solution subjected to photometry, 50 ml; S 53 filter; 3 cm cuvette

plant with products arising during the BLOM reaction, or with one or the other of the reagents.

With a view to clarifying the first point, before trituration, to each of a number of parallel samples a solution of a different pH was added. After trituration, the pH of all samples was uniformly adjusted to 2.5 and the improved BLOM reaction so carried out. The principle underlying this procedure was that should the different samples triturated at different pHs be found to yield different recoveries then it would be obvious that by manipulating the pH we have influenced some kind of a reaction that took place in the time between trituration and the BLOM reaction proper. In all our subsequent experiments the time allowed to elapse between trituration and the BLOM reaction was uniformly 15 minutes.

The first curve in Fig. 7 shows the dependence on the pH of the  $NH_2OH-N$  amounts which, determined with the improved BLOM reaction after standing for 15 minutes, have been recovered from 8  $\gamma$  of  $NH_2OH-N$  that had been added to 1 g of *Capsicum annuum* pod before trituration and in the presence of solutions of a varying pH. It can be seen from this curve that the loss of hydroxylamine is appreciable in the pH range from 1 to 5, i. e., that the optimum pH of the BLOM reaction and the usual pH of plant juices fall between these limits.

It can also be seen that the loss is the smallest if the plant is triturated at pH 0. *Capsicum annuum* being involved the view suggested itself that the loss of hydroxylamine was due to the ascorbic acid it contained. Support was afforded for this view by the finding of LEMOIGNE, MONGUILLON and DESVEAUX [9] that hydroxylamine and vitamin C react during oxime formation. Two experiments have been carried out to test this conception.

b) *Effect of vitamin C.* The second curve in Fig. 7 has been prepared similarly to the first, except that the *Capsicum annuum* pod had been triturated prior to the addition of the buffer and the hydroxylamine, and that, to break

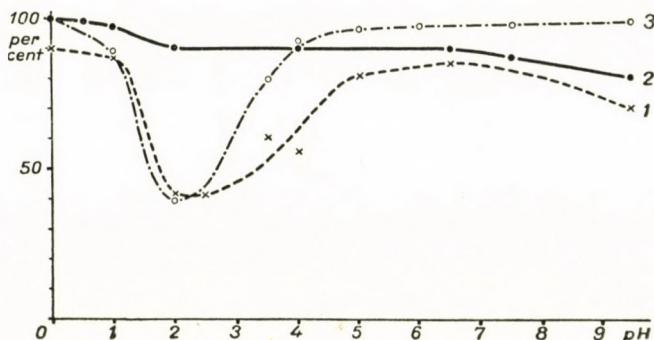


Fig. 7. Recoveries from 8 γ of  $(\text{NH}_2\text{OH})\text{-N}$  added to the juice of 1 g of *Capsicum annuum* pod obtained with the improved BLOM reaction after the samples had been allowed to stand for 15 minutes at different pH values: expressed as percentages of the hydroxylamine added. 1. Without breaking up the ascorbic acid. 2. The ascorbic acid broken up with the juice of *Cucurbita pepo*. 3. Effect of 2 mg of vitamin C on BLOM's reaction in pure solution

down the vitamin C, a few ml of *Cucurbita pepo* juice were added and the mixture was allowed to stand until the ascorbic acid, which was being checked by iodine titration, disappeared from it. Then only were the hydroxylamine and the required buffer added, whereafter the system was left standing for 15 minutes. As can be seen from Fig. 7 the *Capsicum annuum* juice pretreated in this manner practically ceased to cause any loss of hydroxylamine.

In the second experiment an adequate amount of pure ascorbic acid was used instead of *Capsicum annuum* juice; all other conditions were the same as in the first. The pertaining curve (the third in Fig. 7) is similar to the one that refers to green pepper.

From the above it follows that in the *Capsicum annuum* studied by us the predominant interfering factor was the vitamin C contained in it. As regards the mechanism of the interference oxime formation seems the most likely explanation for it. According to Fig. 8 the optimum pH of the latter is around 3. It may thus be that what accounts for the ability of the pH to eliminate the interference is that it shifts the equilibrium of the oxime formation towards the hydrolysis.

The idea, too, arose that the vitamin C interfered not only by way of the oxime formation but also by reducing the diazonium salt to a phenylhydrazine derivative. However, in the BLOM reaction this needs to be taken into account only inasmuch as the vitamin C, if much of it is present, may consume the iodine. An iodine deficiency on the one hand, and an excess of vitamin C on the other, is then responsible for the interference. At any rate, interferences due to the reducing action of the vitamin C are not experienced except in determinations of nitrites, where iodine has no role to play. In experiments not described in the present paper no discolouration at all was obtained by us when to

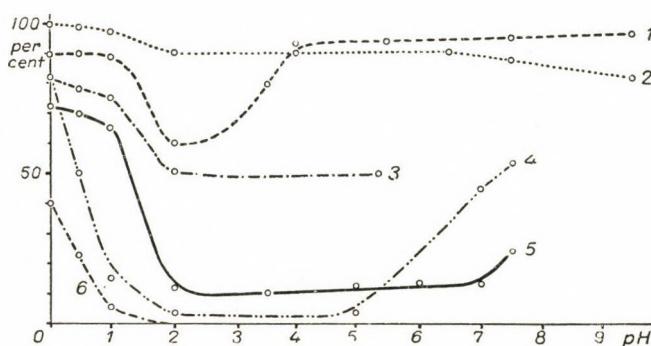


Fig. 8. Recoveries from 8  $\gamma$  of  $(\text{NH}_2\text{OH})\text{-N}$  added to 1 mg of each of various plant juices at various pHs and allowed to stand for 15 minutes, expressed as percentages of the hydroxylamine added. 1. *Raphanus sativus*, root. 2. *Cucurbita pepo*, fruit. 3. *Phaseolus vulgaris*, root. 4. *Raphanus sativus*, leaf. 5. *Petroselinum sativum*, root. 6. *Phaseolus vulgaris*, leaf

the diazonium salt arising during the ILOSVAY-GRIESS reaction 1 or 2 mg of vitamin C were added and followed by the addition of  $\alpha$ -naphthylamine. Vitamin C added after the formation of the azo dye appeared to exert no appreciable effect on the latter.

The same experiment was repeated several times with plants other than *Capsicum annuum*. Fig. 8 presents the results obtained. A series of repetitions was also made involving treatment as above with *Cucurbita pepo*, but an effect similar to that exerted by *Capsicum annuum* was not observed: in most cases the loss rate remained practically unchanged. Going one step farther an answer was sought to the question if there existed any correlation between hydroxylamine losses and vitamin-C contents. No such correlation could be detected at all and so the conclusion forced itself on us that vitamin C was not the only interfering agent.

c) *Effect of phenols.* With a view to disclosing the nature of the other interfering factor the idea was entertained that its effect rested not upon the disappearance of hydroxylamine but on some interference with one of the steps in BLOM's reaction. Since many of them are contained in plants we first of all thought of the compounds of phenolic character, all the more so as in the se-

cond step of the BLOM reaction they may couple with the diazonium salt instead of the  $\alpha$ -naphthylamine and result in compounds less intensive in colour or quite colourless.

With a great variety of plant materials parallel determinations were made in the following manner: For each determination the juice of 1 g of the respective plant material was „titrated” with iodine to make the ascorbic acid disappear; to this were added 8  $\gamma$  of  $\text{NH}_2\text{OH-N}$  and the improved BLOM reaction was then carried out. In parallel samples the extinction values indicative of the phenol contents in the individual plant materials were established

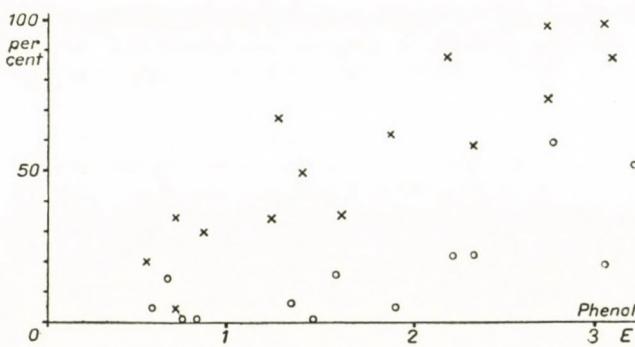


Fig. 9. Quantities disappearing from 8  $\gamma$  of  $(\text{NH}_2\text{OH})\text{-N}$  added to 1 g of each of various plant materials, in dependence on the phenol contents. The values are signified by crosses, whereas those obtained on performing the reaction with nitrite in the absence of iodine are indicated by circles

by means of colour reactions with p-nitroaniline [12]. Each related pair of values is specially marked in Fig. 9. Despite great dispersion of the related pairs

Table 3

Percentages of hydroxylamine recovered with the improved BLOM reaction, respectively its iodine-free modification, from 8  $\gamma$  of  $(\text{NH}_2\text{OH})\text{-N}$  and  $(\text{NO}_2)_2\text{N}$ , respectively, in the presence of 10 mg of a phenol per sample

Phenol added	Determined		
	$\text{NH}_2\text{OH} \%$	$\text{NO}_2^- \%$	
$\text{C}_6\text{H}_5\text{OH}$	phenol .....	80	97
$\text{C}_6\text{H}_4(\text{OH})_2$	pyrocatechin .....	0	55
	resorcin .....	0	48
	hydroquinone .....	15	10
$\text{C}_6\text{H}_3(\text{CH}_3)_3$	pyrogallol .....	0	35
	floroglucin .....	0	90
$\text{C}_6\text{H}_2(\text{OH})_3\text{COOH}$	gallic acid .....	0	85

the direct proportionality obtaining between the loss of hydroxylamine and the extinction value of the phenol reaction is remarkable.

It is not without interest to note that using a nitrite instead of hydroxylamine in the experiment (of course without the use of iodine) the loss will be considerably smaller and it will not be possible to establish definitely the existence of proportionality between it and the phenol content (Fig. 9).

This effect of the phenols has also been studied in pure solutions free from plant materials with the addition of known phenols; the results are listed in Table 3.

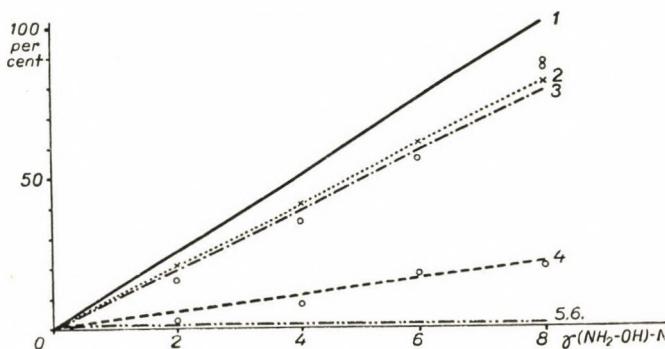


Fig. 10. Extinction values, determined with the improved BLOM reaction, of  $(\text{NH}_2\text{OH})\text{-N}$  added in various amounts to 1 g of each of various plant materials at pH 0 before trituration. 1. Plant-free pure solution. 2. *Raphanus sativus*, root. 3. *Capsicum annuum*, pod. 4. *Raphanus sativus*, leaf. 5. *Pelargonium zonale*, leaf. 6. *Pelargonium zonale*, root.

As can be seen from Table 3 the known phenols used in pure solution exert their effect in the same sense on the BLOM and the ILOSVAY-GRIESS reaction, respectively.

Reverting to the results shown in Fig. 8 the pH of the medium appears to affect interference even by plant materials which are largely free from vitamin C. This permits the conclusion that the phenols interfere not only by way of their competition with the  $\alpha$ -naphthylamine but also by their reaction with the hydroxylamine. We refrained from studying this point in detail because in most plants a very high rate of hydroxylamine loss had been experienced even with trituration at pH 0.

Another figure to give information on the large losses due to the application of the direct method is Fig. 10, which shows the quantities determined from different amount of hydroxylamine added to different plants. In carrying out the determinations the plants were triturated at pH 0 prior to the application of the improved BLOM reaction and after the hydroxylamine had been added. Because of the substantial and apparently unavoidable losses it appeared expedient to study LEMOIGNE's method despite its being much more cumbersome than the simple method involving the adequate adjustment of the pH.

### Lemoigne's method

a) Applying LEMOIGNE's *original method* our hydroxylamine determinations for plant materials in pure solution yielded always only about 10 per cent of the theoretical values even if the determinations in the distillate were made with the improved BLOM reaction so far believed to be the most favourable. For this reason we felt impelled to inquire separately and in detail into each individual phase of the LEMOIGNE reaction. With a view to preventing the

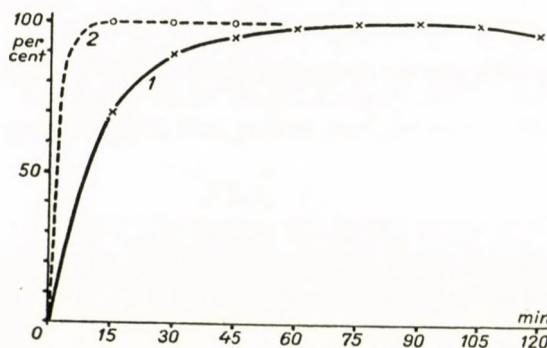


Fig. 11. Quantities of hydroxylamine recovered from (1) acetoxime and (2)  $\text{NH}_2\text{OH}$ , respectively, containing 8  $\mu\text{g}$  of N, as determined with the improved BLOM reaction and allowing various diazotization times

simultaneous action of several interfering factors these phases were studied in reverse order.

b) *Study of the distillate.* The last phase in LEMOIGNE's method, the BLOM reaction with the distillate, was studied first, and under adherence to the experimental conditions established by us to be the optimal conditions. In some preliminary experiments it had been found that from known amounts of hydroxylamine added to the distillate from acetic hydroxylamine solutions prepared with LEMOIGNE's method, only fractions were recoverable. Since this was found to be the case even with distillates from pure, plant-free acetic hydroxylamine solutions our first thought was that the interference might be due to the acetone which distilled together with the acetoxime. Another assumption was that the method as prescribed by LEMOIGNE might not be suitable to hydrolyse the acetoxime (liberate the hydroxylamine), but was soon discarded, because on hydrolysing various oximes in various manners it transpired that there was no need for boiling with strong acids since a considerable part of the hydroxylamine had already been liberated from the acetoxime in the first step of the BLOM reaction (diazotization at pH 2,5). To achieve perfect hydrolysis it is necessary under these conditions to increase the diazotization time to about 1 hour (Fig. 11). But from the distillate obtained with LEMOIGNE's

method even if that much time was allowed for diazotization not more than about 10 per cent was recovered from the hydroxylamine added in known amounts. This lent force to our first thought, namely, that the interference was due to the acetone which distilled together with the acetoxime. LEMOIGNE [8] himself emphasized the necessity of removing the acetone but has failed to describe exactly the manner in which this was to be done. According to our findings while boiling for half a minute does not remove the acetone it may cause a part of the very volatile acetoxime to evaporate.

With a view to finding out which phase of the BLOM reaction the acetone interfered with, experiments were made in which to the acetone-free solutions 1 ml of acetone was added previous to each individual phase of the reaction. The same experiments were also carried out with nitrite instead of hydroxylamine as the starting material. The results obtained are presented in Table 4.

Table 4  
*Effect of 1 ml of acetone on BLOM's reaction*  
(recoveries expressed as percentages of the amounts added)

Acetone added	Starting material	
	8 γ of $(\text{NH}_2\text{OH})-\text{N}$	8 γ of $(\text{NO}_2^-)-\text{N}$
before $\text{I}_2 +$ sulphanilic acid .....	10	66
after $\text{I}_2 +$ sulphanilic acid .....	85	86
after $\alpha$ -naphthylamine .....	100	90

The experiments with nitrite were made because no  $\text{NH}_2\text{OH} \rightarrow \text{NO}_2^-$  reaction taking place in them were expected to furnish indirect information about the effect of the acetone upon that reaction. No oxidising agent being required in this experimental series, iodine was only added to have conditions created which were identical with those obtaining in the other series except for the  $\text{NH}_2\text{OH} \rightarrow \text{NO}_2^-$  reaction.

The data in Table 4 reveal that the joint presence of iodine and acetone also interferes with the diazotization reaction, primarily with the  $\text{NH}_2\text{OH} \rightarrow \text{NO}_2^-$  reaction. Combining this fact with our finding from experiments which need not be described here, that acetone in itself or iodine in itself does not interfere with the reaction, we arrived at the conclusion that the interfering factor was the compound which formed from the acetone upon the action of the iodine, and that this compound interfered chiefly with the oxidation of the hydroxylamine. Our inference from this was that the acetone must be removed before the BLOM reaction is carried out, this being a simpler solution of the problem than searching for the nature of the interference to eliminate it. Incidentally, apart from the specific action of the iodine-acetone compound, it seems

probable that the acetone again binds the hydroxylamine and thereby detracts it from the determination.

The procedure to be found for the removal of the acetone had to fulfill a paradoxical condition : it was to remove the acetone but without allowing to evaporate neither the acetoxime nor the hydroxylamine becoming free with the decrease of acetone.

Acetone and acetoxime being both volatile in a high degree, our first thought was of an agent that would precipitate either the acetone or the hy-

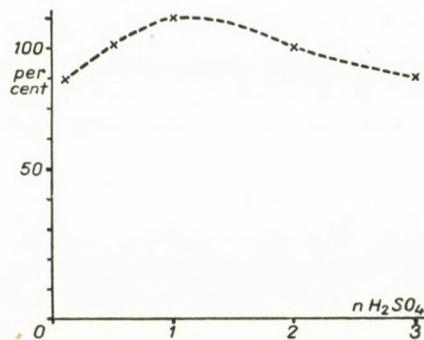


Fig. 12. Effect of sulphuric-acid concentration on the determination of  $\text{NH}_2\text{OH}$  from the distillate. (One ml of acetone plus 8  $\gamma$  of  $(\text{NH}_2\text{OH})\text{-N}$  plus  $\text{H}_2\text{SO}_4$  of varying concentration heated in a Petri dish at 70° C for 20 minutes, then cooled, neutralised, and subjected to the improved BLOM reaction

roxylamine. Failing to find such an agent we resorted to the most obvious method, namely, to removing the acetone by heating under adequate conditions. However, knowing from experience that acetoxime surpassed acetone in volatility, decomposition was required to precede heating, and sulphuric acid was used to achieve this end. The most favourable acid concentration was established in the following manner : to 8- $\gamma$  samples of  $(\text{NH}_2\text{OH})\text{-N}$  1 ml of acetone and sulphuric acid of differing normality were added and the mixtures heated for 20 minutes at 70° C under conditions to be described later in this paper. During subsequent cooling the pH of the solutions was adjusted to 2,5, and the improved BLOM reaction was then performed allowing 90 minutes diazotization time. The effect exerted by the various sulphuric acid concentrations is shown in Fig. 12, from which it can be seen that 1 N is the optimal concentration. According to our observations, in thinner dilutions sulphuric acid does not secure complete hydrolysis and allows a part of the acetoxime to evaporate, while in more concentrated solutions the sodium sulphate forming in large quantities on neutralisation precipitates a part of the azo dye.

From what has been said above it follows that boiling the material to be tested with 3 N sulphuric acid for six hours, as prescribed by the method

[3, 7] for the determination of hydroxylamine bound in the form of oxime, is not required on account of hydrolysis, since that process passes off in a minute or two. The function of the sulphuric acid is much rather to prevent the hydroxylamine from evaporation during the long heating time. The six-hour

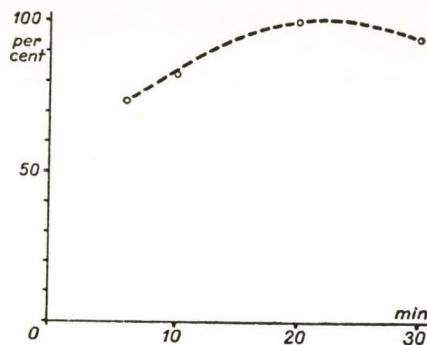


Fig. 13. The same experiment as in Fig. 12 but with heating at 70° C for various lengths of time

heating proved to be useful because during it the 3 N sulphuric acid is sure to break up the materials, or part of them, which interfere with the BLOM reaction. Some unpublished experiments of ours showed that boiling with sulphuric

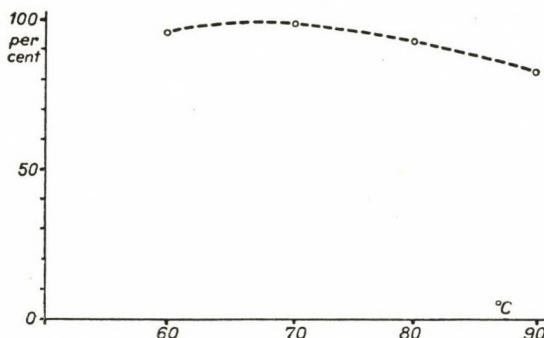


Fig. 14. The same experiment as in Fig. 12 but with heating for 20 minutes at differing temperatures

acid for six hours is not required at all for the determination of pure oximes (piruvic oxim, oxalacetic acid, dimethylglyoxime) in solutions free from interfering materials; the improved BLOM reaction with about 90 minutes, diazotization time permits of their quantitative determination.

The effect of heating times and temperatures is illustrated in Figs. 13 and 14. Both curves show a one-peak optimum. The loss of hydroxylamine which presents itself whenever the heating time is prolonged or the temperature raised

beyond the optimal, seems to indicate that the hydroxylamine is volatile even though to a slight extent only. On the evidence of the two last-mentioned experiments the heating time most favourable to oust the acetone was fixed at 20 minutes, and the temperature at 70° C.

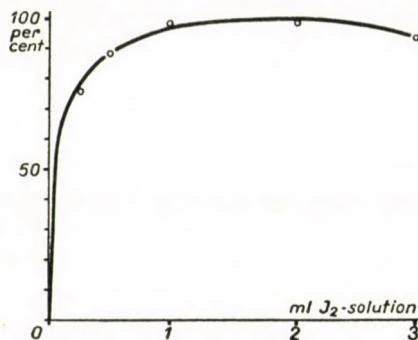


Fig. 15. Effect of amount of iodine on the recovery of hydroxylamine from the distillate containing traces of acetone

Since a small portion of the acetone had been supposed to be left over in the solution after heating the latter as described above, it was to be reck-

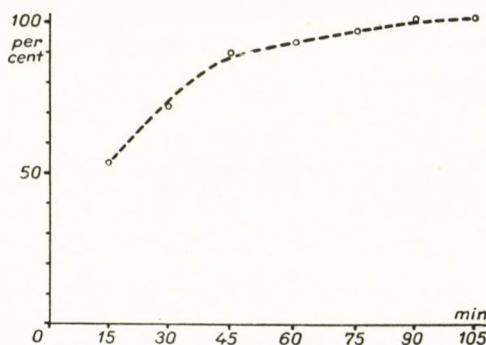


Fig. 16. Effect of length of diazotization time on the recovery of hydroxylamine from distillate containing traces of acetone

oned with that on the one hand it would consume iodine, and on the other that in the shape of oxime it would again bind the hydroxylamine that had previously been liberated. This made it necessary for us to find out what effect changes in the quantity of iodine and the diazotization time would exert on recovery. On the evidence of Fig. 15, to attain a 100-per cent recovery in the presence of acetone in traces about 1 ml of iodine solution is required as against the 0,2 ml which suffice if the solution is a pure one. The diazotization time

in the experiment as per Fig. 15 was 15 minutes, the quantity of iodine applied was 0,5 ml ; on combining the two experiments it will be found that 1 ml of iodine is only required if the diazotization is to last for 15 minutes, whereas 0,5 ml of it are more than enough if the diazotization time is to be 90 minutes. Regarding the excess iodine as risky because of the SANDMEYER reaction we applied in all subsequent experiments the usual 0,5 ml of iodine and extended the diazotization time. Fig. 16, in accordance with expectations, shows that this time is required to be about 90 minutes to allow the newly formed acetoxime to be hydrolysed completely. Too much iodine will likewise cause a loss in recovery, a phenomenon which, too, finds its explanation in the SANDMEYER reaction.

On these grounds, then, for the determination of the hydroxylamine in a distillate containing acetone the improved BLOM reaction is to be modified as follows : With sulphuric acid the solution is made up to 1 N and in a flat open vessel is heated for 20 minutes over the waterbath at 70° C, cooled with cold water and, while cooling, neutralised with 2 N NaOH in the presence of phenolphthalein. Thereafter 1 ml of sulphanilic acid and 0,5 ml of iodine are added and the solution is allowed to stand in the dark for 90 minutes. Following discolouration of the iodine with thiosulphate the solution is diluted with distilled water to about 48 ml and after the addition of 1 ml of  $\alpha$ -naphthylamine made up to 50 ml and, in 15 minutes, subjected to photometry.

Table 5  
*Effect of amount of acetone on the hydroxylamine content of the distillate*  
 (recovery as percentage of the hydroxylamine added)

Amount of acetone in ml	Hydroxylamine recovered in per cent
2 .....	84
2 + 1 .....	90
2 + 1 + 1 .....	95
2 + 1 + 1 + 1 .....	98
2 + 1 + 1 + 1 + 1 .....	100

c) *Investigations into the experimental conditions for distillation.* The exact conditions of all the other steps in the determination having been established, those of the distillation were left to be cleared. The first point was to determine the optimum amount of acetone. This was done by measuring 8 ml of solution containing 8  $\gamma$  of  $(\text{NH}_2\text{OH})\text{-N}$  into the flask of the microdistilling apparatus, adjusting the pH to about 5, and distilling the hydroxylamine with varying amounts of freshly distilled acetone. The distillate was then freed from the acetone in the manner already described, and the improved BLOM reaction was

carried out with the solution allowing a diazotization time of 90 minutes. It has been found that if 1 to 6 ml of acetone were added at one time to the solution to be distilled, and the determination was so carried out, not more than 95 to 96 per cent of the hydroxylamine added could be recovered, whereas 4 ml yielded the same recovery if the acetone was added in instalments. Reference is made in this respect to Table 5.

The pH most desirable for distillation was found to be 5, in agreement with LEMOIGNE's findings. Deviations from this value are bound to cause not insignificant losses. A shift of 2, either towards alkalinity or acidity, gives rise to losses between 20 and 30 per cent.

Accordingly, distillation is to be performed as follows: About 10 ml in volume of the material to be tested are to be placed in a perfectly closed micro-distilling apparatus. (SCHULEK's micro-ammonia apparatus is recommended but the tube of the input funnel is only to reach to the lower bend of the flask neck.) The solution is then brought to pH 5, and 2 ml of freshly distilled acetone, and boiling stones, are added. Thereafter the acetone is distilled off and once more 1 ml amounts of acetone are added, each distilled separately. The distillate is captured in from 8 to 10 ml of 2 N sulphuric acid and then treated in the manner as described under 6. This procedure yields values which agree with the standard curve shown in Fig. 6.

The next point connected with distillation was to study the influence of certain nitrogen derivatives on recovery. It has been found that in pure solutions  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NH}_3$ , HCN, and carbamide, do not interfere with determinations. As regards oximes, it has been observed that in the case of dimethylglyoxime and piruvic oxim all the hydroxylamine distills with the acetone. Practically, this means that the oxime-bound hydroxylamine can also be determined with this method, but in compliance with the law of mass action more acetone must be used in the distillation process.

The greatest advantage hoped to be derived from LEMOIGNE's method was that it might permit the determination of hydroxylamine independently of the interfering materials. However, when it was tried out with plant materials, under observance of the experimental conditions which had been established by us to be the most favourable, it was found that there still arose losses, though considerably smaller ones than on applying the direct method. The results of our pertaining studies are listed in Table 6, in which the data represent the mean values of two or more parallel determinations.

The idea was then entertained that the interfering materials (predominantly phenols) might find their way into the distillate with the aqueous vapours arising on distillation. To the distillates of various plant materials, prepared in the manner described, hydroxylamine alone was added to decide the question. On determination, from 0 to 30 per cent of the hydroxylamine added in known amounts was frequently not recovered, and in some instances, parti-

**Table 6**  
*Determinations of hydroxylamine in various plant materials*  
 (Quantities found expressed in γ)

Plant material	Amount added in g	Distillation		Sulphuric-acid solution	
		Quantity added		0 γ	8 γ
		0 γ	8 γ		
<i>Phaseolus vulgaris</i> , root .....	1	0	7	0	7
" " leaf .....	1	0	5,5	0	4
" " fruit .....	5	0	0,5	0	0
<i>Calystegia tricolor</i> , leaf .....	1	0	6	0	0
" " " .....	5	0	4	0	0
<i>Brassica oleracea</i> var. <i>capitata</i> , leaf	5	0	3,2	0	0
" " " <i>sabauda</i> , leaf	5	0	0,5	0	0
<i>Pelargonium zonale</i> , leaf .....	1	1	4	0	0
" " " .....	5	2	6	0	0
<i>Petroselinum sativum</i> , root .....	1	0	5	0	4
" " " .....	1	0	1	0	0
" " " .....	5	0	2	0	0
<i>Tradescantia virginica</i> , leaf .....	1	0	1	0	0
<i>Raphanus sativus</i> , leaf .....	1	0	6	0	6
" " " .....	1	1,9	7	0	2
<i>Spinacia oleracea</i> , leaf .....	1	0	3	0	0
" " " .....	5	0	1	0	0
<i>Cucurbita pepo</i> , leaf .....	1	1	7,7	0	5
" " fruit .....	1	0	2,5	0	0
<i>Cucumis sativus</i> , fruit .....	5	0	0,5	0	0
<i>Pelargonium zonale</i> , leaf .....	1	2	6, 5,7	0	0
<i>Capiscum annuum</i> , fruit .....	1	0,5	6	0	7,5
" " " (Mirelit) ...	10	1	4,5	0	4
<i>Cucumis sativus</i> , fruit (Mirelit) .....	10	6,9	11, 14	0	6
<i>Cucurbita pepo</i> , fruit (Mirelit) .....	10	1	6	0	7,5

cularly with plants of high phenol contents, the loss rate was substantially higher. Since it has been shown above that with our method it is possible to determine quantitatively the hydroxylamine in the distillate, provided the latter contained no interfering materials in addition to acetone, it is obvious that interfering materials penetrated the distillates from the plant juice. With the aid of the phenol reaction described earlier, they proved to be demonstrable in the distillate. It could also be shown that about one tenth of the plants' original phenol contents had distilled under the given conditions. While, then, distillation reduces to a fraction the loss due to the interfering materials, the

one tenth part which had distilled, explains why quantitative determination is not feasible in plant materials.

Attempts made to retain the phenols by shifting the pH of the solution towards alkalinity, have failed of effect; a part of the phenols continued to distill; moreover, in respect of acetoxime formation the alkaline medium proved to be unfavourable.

For these reasons we felt compelled to resort to operating with the loss coefficient introduced in connection with the determination of nitrites. This was done by making two parallel determinations with the method described by us: in one of them a measured quantity of hydroxylamine is added to one half of the material tested, while in the other only the original hydroxylamine content of the other half is determined. If there is no interference to cause a loss, the difference between the two results obtained will be equal to the hydroxylamine added in a known quantity to one half of the sample. If this difference is less than that, it means that interfering factors had presented themselves, and then the recovery from the original hydroxylamine in the second half of the sample (the one to which no hydroxylamine had been added) is to be multiplied by the loss coefficient, which is the quotient of the quantity of hydroxylamine added to the first half of the sample divided by the difference between the two determinations. If, then, there is no loss, the loss coefficient equals 1 and, accordingly, there is no need to correct the result obtained in regard to the original material.

In experiments which cannot be described in this paper it has been established that between the limits of 0 and 10 γ of  $\text{NH}_2\text{OH}$  the loss coefficient is proportionate to the quantity of hydroxylamine added.

#### Plant materials and bleeding saps

Earlier in this paper, in Table 6, we have listed the amounts of hydroxylamine found in different plant materials with our method yielding maximum results. This table shows that in most plants there was originally no hydroxylamine, since without the previous addition of some, none could be recovered in measurable amounts; on the other hand, the loss coefficients computed from the recoveries from the hydroxylamine quantities added, in most cases show that a more or less substantial hydroxylamine fraction is after all determinable, i. e., the hydroxylamine does not disappear altogether. The only case in which the method recommended by us fails to be of avail is when the hydroxylamine added to the parallel sample suffers a total loss. This, however, is a very rare occurrence, as can be seen from Table 6.

The plants which in Table 6 are seen to have contained hydroxylamine were all stored plants („Mirelite”) or such as had been harvested in the winter.

Maybe the slackening of hydroxylamine formation is in some way related to a reduction in the rate of metabolism.

Finally, the hydroxylamine contents of the bleeding sap in *Cucurbita pepo* have been studied in the growing plant. In no instance was own hydroxylamine demonstrable, and the recovery from the hydroxylamine added to the parallel sample was invariably less than the expected. This finding is remarkable because it shows that the temporarily formed hydroxylamine continues to form in the root already; nitrate and organic nitrogen being both encountered in the bleeding sap, it is already in the root that a considerable part of the nitrate taken up transforms to an organic compound.

#### REFERENCES

1. BLOM, J. (1926) Empfindliche und spezifische Reaktionen auf Nitrat und Hydroxylamin. *Ber. D. Chem. Ges.*, **59**, 121—125.
2. CSÁKY, T. Z. (1948) On the estimation of bound hydroxylamine in biological materials. *Acta Chem. Scand.*, **2**, 450—454.
3. ENDRES, G. (1935) Zur Kenntniss der stickstoffassimilierenden Bakterien. II. Über die Bindung des Luftstickstoffes durch *Azotobakter*. *Liebigs Ann. Chemie*, **518**, 109—126.
4. FEIGL, F., UZEL, R. (1935—36) Beiträge zur qualitativen Mikroanalyse. *Mikrochemie*, **19**, 132—143.
5. HÜCKEL, W. (1950) Lehrbuch der Chemie. II. Organische Chemie. 4. Aufl. Geest & Portig, Leipzig.
6. JÁMBOR, B. (1951) A nitrit mikro-mennyiségeinek meghatározása fotometrálással. I. Vizsgálatok tiszta nitrit oldattal. Photometrische Mikrobestimmung des Nitrits. I. *Agrokémia és Talajtan*, **1** (1), 51—66. (In Hungarian, German, Russian summary.)
7. LAINE, T., VIRTANEN, A. (1940) Die Stickstoffassimilation. In BAMANN, E., MYRBÄCK, K. Die Methoden der Fermentforschung. Thieme, Leipzig, 2720—2740.
8. LEMOIGNE, M., MONGUILLON, P., DESVEAUX, R. (1936) Recherches sur le rôle biologique de l'hydroxylamine. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, **18**, 841—867.
9. LEMOIGNE, M., MONGUILLON, P., DESVEAUX, R. (1937) Réduction de l'acide nitreux par les végétaux supérieurs. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, **19**, 1350—1360.
10. SCHULEK, E., FÓTI, Gy. (1949) Igen kis mennyiségeű nitrogén meghatározása szerves vegyületekben a KJELDAHL-féle elv alapján. Mikrogrammverfahren zur Bestimmung des organisch gebundenen Stickstoffes nach der KJELDAHLmethode. *Magy. Kém. Lapja*, **55**, 406—409. (In Hungarian, German summary.)
11. STEWARD, F. C., STREET, H. E. (1947) The nitrogenous constituents of plants. *Ann. Rev. Biochem.*, **16**, 471—502.
12. THIEL, A. (1939) Absolutkolorimetrie. Gruyter, Berlin.

#### ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГИДРОКСИЛАМИНА В РАСТИТЕЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВАХ

Авторы подвергли критическому исследованию метод для определения гидроксиламина Блома и Лемуана, и пришли к следующим установлениям:

Диазотирование следует проводить в темноте.

Оптимальная величина pH первой и второй фаз реакции Блома — 2,5.

Определению мешает присутствие витамина С, фенолов, ацетона или же других кетонов. Если исследуемое растение содержит вышеупомянутые вещества, то непосредственное определение гидроксиламина возможно только с потерями.

Авторы установили оптимальные условия метода Лемуана, при соблюдении которых, в случае чистого раствора, получаются количественные результаты.

При проведении определения по Лемуанию в растительном веществе, примерно 1/10-ая часть мешающих фенолов перегонялась, причем предотвратить их перегонку посредством подщелачивания не удалось.

Ввиду того, что и в этом случае наблюдается более или менее значительное уменьшение результатов, авторы на основании результата, полученного посредством определения добавленного к параллельной пробе гидроксиламина известного количества, предлагаю применение так называемого коэффициента потери.

С помощью предложенного авторами метода, за исключением того случая, когда потеря, вызванная мешающими веществами, равна 100%, фактическая величина содержания гидроксиламина воспроизводимо определима с точностью примерно 10%.

Определения, проведенные авторами в различных растениях и пасоках, как правило, давали отрицательные результаты, за исключением растений с пониженным обменом веществ (зимние, амбарные растения).

### BESTIMMUNG DES HYDROXYLAMINS IN PFLANZLICHEN STOFFEN

Bei der kritischen Untersuchung der zur Bestimmung des Hydroxylamins dienenden BLOM und LEMOIGNE-Methoden wurde folgendes festgestellt :

Die Diazotierung muss im Dunkeln durchgeführt werden.

Das pH-Optimum in der ersten und zweiten Phase der BLOM-Reaktion beträgt 2,5.

Die Bestimmung wird durch die Anwesenheit von Vitamin-C, Phenolen, Azeton bzw. anderen Ketonen gestört. Enthält die untersuchte Pflanze diese Stoffe, ist die direkte Bestimmung des Hydroxylamins nur mit Verlust möglich.

Es wurden die optimalen Bedingungen der LEMOIGNE-Methode festgestellt, bei deren Einhaltung, im Falle einer reinen Lösung, ein quantitatives Resultat zu erwarten ist.

Wurde die LEMOIGNE-Bestimmung mit Stoffen pflanzlicher Herkunft durchgeführt, enthielt das Destillat stets auch ungefähr ein Zehntel der störenden Phenole, ein Umstand, der durch Alkalisierung nicht verhindert werden konnte.

Da auch so im Bestimmungsresultat eine kleinere-größere Verminderung erfolgt, empfehlen wir die Verwendung des sog. Verlustkoeffizienten, der auf Grund eines Resultats errechnet wurde, das wir durch die Bestimmung des zu einer parallelen Probe gegebenen quantitativ bekannten Hydroxylamins erhalten.

Wird durch die störenden Faktoren kein 100%-iger Verlust verursacht, so gestattet die von uns angewendete Methode den realen Wert des Hydroxylamingehalts mit einer bis auf ungefähr 10% genauen reproduzierbaren Pünktlichkeit zu bestimmen.

Die mit unserer Methode an verschiedenen Pflanzen und Guttationsflüssigkeiten durchgeführten Bestimmungen führten im allgemeinen zu einem negativen Resultat, ausgenommen die gelagerten Pflanzen mit vermindertem Stoffwechsel.

BÉLA JÁMBOR Budapest VIII., Muzeum krt. 4/a, Hungary

JENŐ KISS, Budapest VIII., Muzeum krt. 4/a, Hungary



# STUDIES ON THE RESISTANCE TO STREPTOMYCIN OF STREPTOMYCES GRISEUS

## I. FREQUENCY OF RESISTANT VARIANTS. PATTERNS OF RESISTANCE

G. SZABÓ and T. VÁLYI-NAGY

DEPARTMENT OF ANTIBIOTICS, INSTITUTE OF EXPERIMENTAL MEDICINE OF THE HUNGARIAN  
ACADEMY OF SCIENCES, DEBRECEN (HEAD: T. VÁLYI-NAGY)

(Received August 24, 1955)

### Summary

The mechanism of the development of the resistance to streptomycin of *Streptomyces griseus* was investigated. The experiments for determining the number of the resistant individuals in the population showed that the effect of streptomycin was affected — in several fields similarly as in the case of bacteria — by the composition of the medium and the age of the spores respectively.

In place of the one-step resistance, a special stepwise development of resistance was observed with *Streptomyces griseus*.

Spores of *Streptomyces griseus* produced by streptomycin resistant isolated colonies proved to be inhomogeneous. Only a variable number of spores could grow at the streptomycin concentration of the medium in which their parent colony grew already. This variation could be shown even in cases when the *Streptomyces griseus* strain was subcultured many times in the presence of the drug. Culturing in medium containing streptomycin did not alter the rate of the resistant spores of a colony which could grow at that streptomycin concentration at which their parent colony grew. This described phenomenon may have biological significance in adaptation of the Streptomycetaceae to periodical appearing environmental alterations when the strain have at the disposal not only the changed, but the original unchanged individuals too.

The sensitivity to streptomycin of *Streptomyces griseus* is known [13, 20, 23] as streptomycin inhibits the growth of strain, blocking its metabolism. The object of the present investigations was to clear up the regularities in the development of resistance to streptomycin of *Streptomyces griseus*. The problem seems to be of interest, owing to the presence of a resistance to an antibiotic produced by the microorganism itself. Strains of *Streptomyces griseus* showing increased resistance to streptomycin were applied at the selection of variants producing appreciable quantities of antibiotics [6]. Besides, the experimental results are considered to be of importance because the dynamics of the development of resistance were studied in a microorganism standing over bacteria from a phylogenetical point of view, offering thus opportunities for remarkable comparisons.

### Methods and materials

In the present experiments a strain of *Streptomyces griseus* applied in the industry was used.

The solid medium used had the following composition: 900 ml. of potato extract prepared by tap water, 100 ml. of yeast extract, 10 g. of  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ , 1 g. of  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  and 2% of agar. The medium was adjusted to pH 7,5 (referred to later as Medium I).

The composition of another solid medium applied was: soya-bean meal, 2%, glucose, 0,2%, corn steep liquor (referred to dry matter), 0,4%,  $\text{FeSO}_4$ , 0,0005%,  $\text{MnSO}_4$ , 0,0005%,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , 12  $\text{H}_2\text{O}$ , 0,5%,  $\text{CaCO}_3$ , 0,2%, yeast broth, 20% and agar, 2% (referred to later as medium II). The medium was prepared by tap water, filtered and adjusted also to pH 7,5, then sterilised in an autoclave for twenty minutes under a pressure of 1,5 atm., repeatedly adjusted to pH 7,5. When media of other pH values were used, this fact is mentioned in the table.

Throughout the experiments, streptomycin sulphate containing 600 units of base in a mg. was used. In resistance tests, solution of streptomycin was added to an agar medium previously melted and cooled to 45°, until the medium attained the desired concentration of the drug. At the same time, also the suspension of the spores to be examined was added.

Spore suspensions used for inoculation were prepared freshly by shaking 5 to 10 days old cultures of *Streptomyces griseus* with glass beads, then suspending in a physiological solution of sodium chloride and diluting the suspension as a rule on a scale of tenfold volume with a 0,9% solution of sodium chloride.

Spore numbers were counted by hematocytometer.

In each set of experiments plate and test tube cultures were prepared in duplicates and triplicates respectively, colony counts were made when culture were 7 days of age. Cultures were incubated in a 27° thermostat.

Measurement of sizes of colonies: in certain experiments also the diameters of colonies grown in plate cultures were measured by a Zeiss ocular micrometer (tenfold objective).

## Results

First of all, it was attempted to determine the number of variants of *Streptomyces griseus* resistant to high concentrations of streptomycin applied in the present experiments. It has been shown earlier [19] that in the case of bacteria the activity of streptomycin is a function of the pH value of the medium. A preliminary experiment was carried out to examine whether the strain of *Streptomyces griseus* applied shows properties similar to those of bacteria, or not (Table 1). The data of Table 1 support that the dependence on pH values — similarly to bacteria — exists also with variants of *Streptomyces griseus* resistant to streptomycin.

Table 1  
Correlation of pH values and number of resistant colonies

Number of experiment	Medium applied	Age of spores	pH value	Number of sensitive spores required to produce a resistant colony
48	II		6,8	176000
66	II		6,8	90000
109	II		7,2	2100000 ; 1000000 ; 1,530000* 820000 ; 930000 2800000
58	I		7,2	2200000
77	I	10 days	7,2	1695000*
95	I	5 days	7,2	1152000*
139	I	6 days	7,5	61200000*
152	I	15 days	7,4	198000000
163	I	3 days	7,5	900000000

\*Mean values of data obtained with different dilutions

It was examined whether the nature of the two types of media applied in the present experiments affects the occurrence of resistant variants, and we were studying at the same time also the correlation of the age of spores with changes in the number of variants. Earlier experiments proved that the viability of spores of *Streptomyces griseus* is reduced by an incubation in a 27° thermostat for 14—20 days in medium I, as it is indicated by the fact that the number of spores capable of forming visible colonies on inoculation steadily decreases. Spore numbers given in Table 1 refer to living spores in a medium free of streptomycin. It can be seen that resistant variants occur relatively rarely in very young and in aged cultures.

Table 2a  
*Deviations in numbers of colonies in plates of experiments in replicate*

Number of experiment	Number of colonies in a plate			Deviation *
	I	II	III	
48	316	419	++++	
58	22	27	++++	
66	65	38	64	< 2
77	52	54		< 2
	1	0		
95a	49	56		< 2
	33	32	47	< 2
	64	15	17	< 5
	42	13	33	< 4
	9	4		< 2
	5	15	15	= 3
95b	9	9	8	< 2
	4	8	5	= 2
	19	2	1	< 20
	37	9	12	< 5
	1	1		1
	1	2	0	
109	37	37	53	< 2
	7	7	6	< 2
139	3	21	15	< 8
	1	0	1	
163	1	0		

\* Deviation expressed as the quotient of the highest and lowest values  
a count carried out on the fifth day

b count carried out on the seventh day

Table 2b

*Deviations of values obtained in the same experiment with different dilutions*

Number of experiment	Degree of dilution	Number of sensitive spores required to produce a resistant colony
77	$10^6$	870000
	$5 \cdot 10^6$	2520000
95	$10^6$	0960000
	$1,25 \cdot 10^6$	1080000
	$1,66 \cdot 10^6$	930000
	$2,5 \cdot 10^6$	860000
	$5 \cdot 10^6$	1500000
	$10 \cdot 10^6$	430000
139	$10^6$	11700000
	$2 \cdot 10^6$	116000000
	$4 \cdot 10^6$	116000000
163	$10^6$	1200000000
	$2 \cdot 10^6$	600000000
109	$10^6$	2100000
	$2 \cdot 10^6$	820000
	$4 \cdot 10^6$	1000000
	$8 \cdot 10^6$	930000
	$16 \cdot 10^6$	2800000

When evaluating the data of Table 1 differences of parallel grown cultures observed in a great number of experiments, on the one hand, and deviations manifesting themselves at various spore dilutions within the same experiment, on the other, were compared (Tables 2a, b). The statistical evaluation of these data presented some difficulties. Namely, the anomaly was sometimes observed that on certain plates inoculated simultaneously the colonies appeared in uncountable quantities or were completely absent, whereas they presented themselves on the majority of the parallel plates in readily countable quantities. The cause of this anomaly is unknown. In the latter case the numbers of colonies counted in parallel experiments showed, in general, a tolerable accordance. Experiment No. 139 in Table 2b indicates also an anomaly, concerning which, for the moment, no explanation can be offered. Experiments conducted with the object of examining the significance of spore density and spore mass, respectively, showed several cases (as e. g. experiment No. 139) in which a disproportionately great number of colonies were formed by

using a heavy spore inoculum. However, this phenomenon is rare. Regularities of this type and their probable causes will be explained in a subsequent paper.

The formation of resistant colonies was apparently not facilitated by the presence of cells killed by treatment with ultraviolet light (Table 3). In the

Table 3

*Effect of cells killed by an ultraviolet irradiation of 10 minutes on the formation of colonies resistant to 300 µg/ml. of streptomycin*

Number of spores		Number of colonies formed
viable	killed	
1200 · 10 <sup>6</sup>	—	1
600 · 10 <sup>6</sup>	—	1
300 · 10 <sup>6</sup>	—	0
	1200 · 10 <sup>6</sup>	0
1200 · 10 <sup>6</sup>	1200 · 10 <sup>6</sup>	0

course of experiments some resistant colonies developed slower in the presence of streptomycin. To solve this problem in a quite precise way, the changes in the rate of growth of resistant cultures were studied in the presence of streptomycin. The diameters of groups consisting of ten colonies were measured (Table 4), as the comparison of diameters of colonies seemed suited for the

Table 4

*Diameters of colonies of Streptomyces griseus formed in media free of streptomycin and containing streptomycin, respectively*

Medium	Diameter of colony, millimetres						Mean value	Standard deviation	s. d.
Free of streptomycin	3,2	2,6	3,1	2,7	2,4	3,1	2,93	± 0,34	over 4
Containing streptomycin	1,9	2,4	2,5	2,6	2,4	2,3	2,3	± 0,026	

determination of the rate of growth. Streptomycin-resistant strains proved to grow slower in the presence of streptomycin than in its absence. Certain strains may show rates of growth differing from those indicated in Table 4, or may show higher or identical rates of growth in media free of streptomycin and in those containing streptomycin.

This reduction of the rate of growth manifests itself also in a change in the number of spores formed by one colony in media free of, or containing, streptomycin, as indicated by Table 5. This numerical correlation was observed in microcultures as well.

Table 5

*Spore numbers of colonies formed in media free of streptomycin and containing streptomycin, respectively*

Number of colony	Spore numbers of colonies formed in media free of streptomycin	Number of colony	Spore numbers of colonies formed in media containing streptomycin
1	$12,9 \cdot 10^6$ spores/colony	1	$8,25 \cdot 10^6$ spores/colony
2	$50,1 \cdot 10^6$ « «	2	$2,7 \cdot 10^6$ « «
3	$35,1 \cdot 10^6$ « «	3	$5,55 \cdot 10^6$ « «
4	$43,5 \cdot 10^6$ « «	4	$2,1 \cdot 10^6$ « «
5	$21,6 \cdot 10^6$ « «	5	$23,4 \cdot 10^6$ « «
6	$58,2 \cdot 10^6$ « «	6	$1,07 \cdot 10^6$ « «
		7	$1,07 \cdot 10^6$ « «
		8	$1,07 \cdot 10^6$ « «
		9	$1,02 \cdot 10^6$ « «

In further investigations the form of the development of resistance was studied.

In general, two types of mechanisms used to be distinguished in the development of resistance to drugs. The stepwise development of resistance occurs with penicillin, chloramphenicol, aureomycin and terramycin, etc., whereas the one-step formation of resistance was described in the case of streptomycin and isonicotinic hydrazide, respectively [1, 7, 10, 14, 18]. One-step resistance would mean that the resistant cell or colony formed grows, or is capable of growing, not only at the actual drug concentration at which it has been isolated but at higher concentrations as well, acquiring complete resistance. The correct determination of the resistance to streptomycin of *Streptomyces griseus* encountered various difficulties. On inoculating agar slopes with sensible spores, using loops, the following results (Table 6) were obtained by increasing concentrations of streptomycin.

Table 6

*Results of tests of sensitivity to streptomycin of *Streptomyces griseus* in agar slopes*

Number of test tube	Concentration of streptomycin $\mu\text{g}/\text{ml}$ .	Growth
1—2	0	++++
3—4	60	++
5—6	120	+
7—8	300	-+
9—10	600	0

Experimental data derived this way proved unsuited for the determination of resistance to streptomycin of the strain of *Streptomyces* tested. Namely, when the quantity of inoculum picked up by the loop was increased, growth was observed even in media of a streptomycin concentration of 600  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , and this is evidently not characteristic of the real degree of sensitivity of this strain.

In a liquid culture abundant growth was observed at a concentration of 240  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . The strain presumably contains various types of spores with different degrees of resistance and different capabilities of adaptation, respectively.

The only way of obtaining data characterising the sensitivity of a given strain consisted in inoculating nutrient media with inocula of a defined — not exceedingly great — number of spores at increasing streptomycin concentrations and in counting the number of colonies formed.

The penicillin-sensitivity of a strain of *Staphylococcus* proved to be similar in the experiments of LURIA [9] where the number of colonies formed at different concentrations of penicillin was varying. In the case of streptomycin, in turn, the interval of concentration showed a broader range. However, this is only an apparent difference because the interval in which formation of colonies is observed, becomes narrower by the change of pH values. In the case of penicillin the correlation of the number of colonies formed and of the linear increase of concentration follows an exponential curve, approximately.

Table 7 shows one of the experiments carried out to test the streptomycin-sensitivity of *Streptomyces griseus*.

Table 7  
Sensitivity of spores of *Streptomyces griseus* at pH 7, to different concentrations of streptomycin

Streptomycin	0	6	30	60	120 $\mu\text{g}/\text{ml}$ .
Number of spores*	274	280	261	26	0
Percentage of colonies grown, referred to control tests	100	102	95	9,4	0

\* Mean values of triplicate tests

It can be seen in this table that the majority of spores (about 90%) is perceptibly inhibited in growth at pH 7 by the presence of 60  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , and at pH 7,5 by even 30 and 18  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , respectively. The fact that the sensitivity of this strain is in the case of such small inocula, at pH 7, equal to 60  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , indicates the presence, in this strain, of spores with widely varying resistance and capabilities of adaptation. The number of growing spores at concentrations of 30 and 60  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , respectively, shows an exponential correlation by the

linear change of streptomycin concentration. This case does not exist, however, at the concentration ranges from 60 to 120  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . Accordingly, it seems correct to indicate sensitivity just at the point where the rate of decrease of the number of colonies formed ranged over values of the exponential function. In case of an exponential rate of reduction of activity, 504 colonies should have been formed at 120  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . from 56 000 viable spores. However, Table 8 shows no colo-

Table 8

*Sensitivity of spores of *Streptomyces griseus* to different concentrations of streptomycin; pH 7*

	Streptomycin $\mu\text{g}/\text{ml}$ .	0	6	30	60	120
Number of spores of inoculum	5600	++++	++++	++++	++++	0
Number of colonies grown	56000	++++	++++	++++	++++	0

nies formed at 120  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ., indicating that the number of colonies resistant to a concentration of 120  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . ranges below 0,005% of sensitive spores.

Moreover, the table shows that the strain of *Streptomyces griseus* applied is by no means homogeneous from the point of view of resistance, inasmuch as spores with different capabilities of resistance are formed. The limits of concentration at which growth can be observed in readily detectable percentages in the case of very minute inocula, can be reduced by raising pH values (i. e. by raising the efficient concentration of streptomycin; Table 9).

Table 9

*Correlation of sensitivity to streptomycin of *Streptomyces griseus* and pH values*

Concentration of streptomycin	0		6		30		60 $\mu\text{g}/\text{ml}$ .		
	Number of colonies at	Abs. number	Percent- age*	Abs. number	Percent- age*	Abs. number	Percent- age*	Abs. number	Percent- age*
pH 6 .....	191	100		195	102	173	90	179	93
pH 7 .....	169	100		176	104	171	101	0	0
pH 7,5 .....	141	100		121	86	12	8,5	0	0

\* Referred to control tests

Consecutively, the development of resistance of *Streptomyces griseus* to higher concentrations of streptomycin was studied.

Transfers carried out consecutively in a liquid medium of gradually rising concentration would only show that a selection of originally resistant spores took place.

Accordingly, the method applied consisted in distributing the suspension of sensitive spores in an agar slope of increasing concentrations of streptomycin. A confluent colony appeared at 0  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . whereas the growth of colonies was less dense with rising concentrations of streptomycin. Streptomycin-sensitivity was defined by the lowest concentration at which confluent colonies appeared. It can be seen in Fig. 1 that a concentrated suspension of the sensitive strain obtained by flooding an agar slope with sodium chloride solution yielded a confluent film at 12  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . whereas only scattered colonies appeared at 18  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . Results of counts carried out simultaneously are shown in Table 10. The method illustrated in Fig. 1 seems to be able to indicate cases in which

Table 10

*Sensitivity to streptomycin of *Streptomyces griseus* at pH 7,5 in media of consecutively raised concentrations of streptomycin*

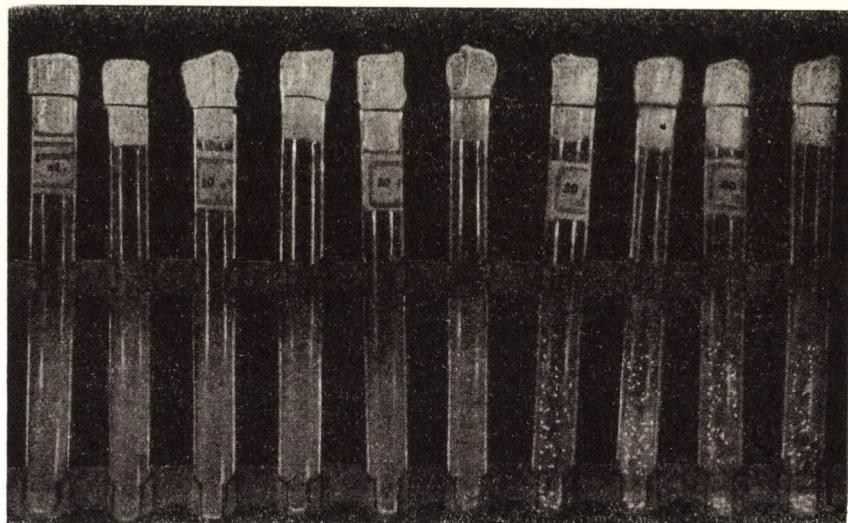
Concentration of streptomycin, $\mu\text{g}/\text{ml}$ .	Plate I	Plate II	Mean value	Percentage referred to control test
0 .....	54	70	62	100
6 .....	93	89	91	146
12 .....	78	85	81	132
18 .....	30	25	27,5	45

one third of the spores do not grow. Colonies yielding a confluent film at the highest concentration applied were shaken with glass beads, suspended in a physiological solution of sodium chloride and re-inoculated in a medium of higher concentration. The data obtained this way showed that a culture acquiring certain resistance is capable of growing in a given interval of concentration, in the majority of spores. However, repeated transfers are required to attain formation of a completely confluent film. The method proved suited to detect characteristic limits and steps, as shown in Table 11.

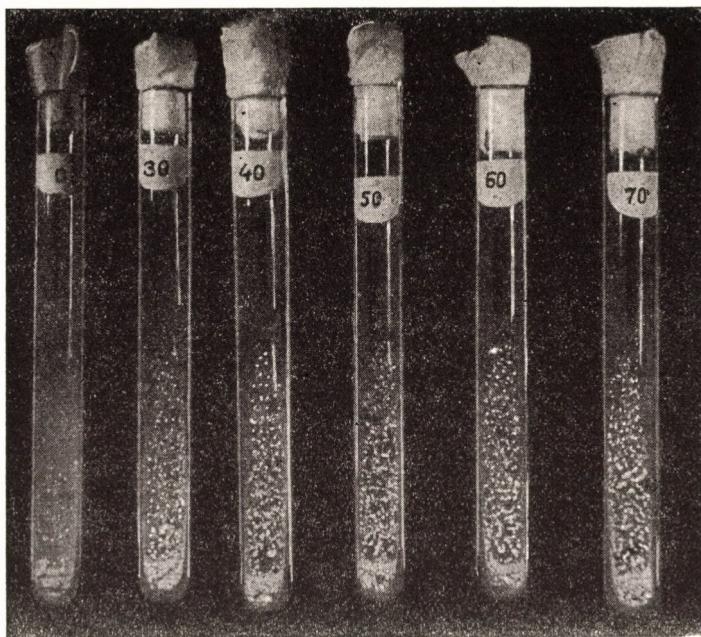
Table 11

*„Stepwise” development of resistance to streptomycin of *Streptomyces griseus**

Number of steps of resistance	Steps of resistance of <i>Streptomyces griseus</i> expressed as concentrations of streptomycin, $\mu\text{g}/\text{ml}$ .											
I	6	12										
II			18	24	30							
III						36	42					
IV								66	72	90		480



**Fig. 1.** Behaviour of the *Streptomyces griseus* sensible spores on agar slopes containing 0, 12, 18, 24  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . streptomycin. At lower concentrations the culture gave confluent growth



**Fig. 2.** Flooding agar slopes containing 0, 18, 24, 30, 36, 42  $\mu\text{g}/\text{ml}$  streptomycin with *Streptomyces griseus* spores originated a colony that gave once already confluent growth at 18  $\mu\text{g}/\text{ml}$  streptomycin concentration

Table 11 presents one of the experiments. In other experiments the number of steps, the number of transfers required by new steps and the place of steps varied. It must be emphasized, however, that the development of resistance to streptomycin of *Streptomyces griseus* had in each case shown a step-wise character.

Attempts were made to clear up the factors responsible for this characteristic form of the development of resistance. It may be presumed that a simple selection of resistant elements originally present in the population may lead to resistance. However, the study of the experiments described previously does not support this presumption. As Table 10 shows, resistant cultures are defined by the concentration range at which — by diminishing resistances — a confluent film still appears. These are inoculated from tubes containing at least 50% of elements sensitive to the concentration of the next tube. It can be seen from Table 10 that a confluent film (i. e. growth of each spore) appears at 12  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . whereas only 45% of the spores grow at 18  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . This means that cultures with a confluent growth of film (serving for inoculating transfers) contain at least 50% of spores less resistant than those in the next range of concentration. In each training step of transfer, the maximal rise possible in the number of resistant spores is 50%, unless we suppose that resistant spores occupy a spatial distribution favourable to their selection. In the present experiments 9 transfers were performed until the degree of resistance attained the range 300  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . This would mean — according to our presumption — that the number of resistant elements was persistently increased by 50% in each consecutive inoculation (transfer). If this supposition were correct 0,1% of the population should have been *a priori* resistant to a concentration of 300  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . However, this presumption is not supported by the data of Table 8.

On considering the previously mentioned facts and the results of the present experiments, a certain form of selective mechanism may be supposed, as indicated also by Fig. 2, representing one of the experiments performed in the study of rising resistance. This figure shows test tubes containing 0 and 18, then 24, etc.  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . of streptomycin inoculated by spore suspensions forming a confluent mat even at 12 and 18  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . However, when a spore suspension taken from the sample of 18  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . was transferred again to a sample of 18  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ., spore growth was not observed with each individual spore. Accordingly, it can be presumed that at the previous inoculation less resistant spores could also grow whereas in the case of transfer the growth of less resistant colonies is inhibited by those which acquired stronger resistance. Antagonisms of this type observed between parents and variants of the same population were described earlier in literature [15, 16, 17, 21, 22]. Independent of the actual form of this mechanism, the existence of a selection seems probable. The "anomaly" visible in tube 8 of Fig. 1 (when a confluent growth appeared only in a small spot whereas inhibitive effect prevented spore growth in

the residual portion of the tube surface), may be explained in a similar way. It may be presumed that the formation of a small confluent film is due to resistant spores occurring by chance. On the basis of our other experiments and of data in the literature it seems probable that a process leading to significant changes in the properties of spores, occurring instantaneously, is responsible for the formation of steps. Capability of growing in intervals between steps is, in turn, being facilitated particularly by an adaptation mechanism.

The formation on several consecutive steps is supported by other experimental facts also. In experiment No. 202, an identical number of spores was applied as inoculum at 420 and 600  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . respectively. If resistance were a one-step phenomenon, the number of colonies formed in the mentioned two ranges of concentration should be identical. In fact, the number of colonies was at 420  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . many times greater than that observed with 600  $\mu\text{g}/\text{ml}$ .

If, further, the degrees of resistance indicated by Table 11 were to represent characteristics of the strain or of forms *a priori* defined as those capable of being converted into resistant ones, indicated by the data of MITCHISON [11, 12], the number of colonies formed at 60, 120, 240 and 480  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . should be identical in the majority of concentrations, or at least in two different concentrations. Nevertheless, this proved not to be the case, since it varied with different strains. In experiments Nos. 188 and 189 where three colonies were investigated at 60—120 and 240  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ., the number of resistant progeny was identical at both smaller concentrations, whereas the number of resistant colonies was unproportionately lower at 240  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . Similar results were obtained in 12 further experiments carried out with the object of solving the problem, only one experiment showing a strain where spore growth was quite identical in the interval of 0 to 600  $\mu\text{g}/\text{ml}$ .

The following experiments aimed at obtaining information on the resistance of the spores of colonies grown at given concentrations of streptomycin. It was found that only a portion of the spores of colonies grown at identical concentrations is resistant to identical concentrations of streptomycin. It has been studied to which extent the presence of streptomycin as a specific agent affects the latter property of the strain in consecutive transfers and whether the number of resistant spores formed at 600  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . increases on consecutive transfers or not. To this aim, isolated colonies derived from spores of a colony of *Streptomyces griseus* isolated in a medium containing streptomycin were examined in an experiment. It was found that the degrees of resistance of spores derived from colonies grown of a single spore were just as scattered as those observed when using a mixed resistant culture from an agar slope. The plan of experiments of this type is illustrated by the scheme in Fig. 3. It can be seen that in each case the number of spores resistant at 600  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . was counted in 4 colonies formed at 600  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ., and this was repeated through several generations.

A culture grown at 300  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . was applied in this experiment subsequent to transfer to an agar slope of 600  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . It was found that — at a given concentration — 1,02 to 1,24% of the spores of a progeny of mixed population, derived not of a single spore, proved resistant at 600  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . When this isolated

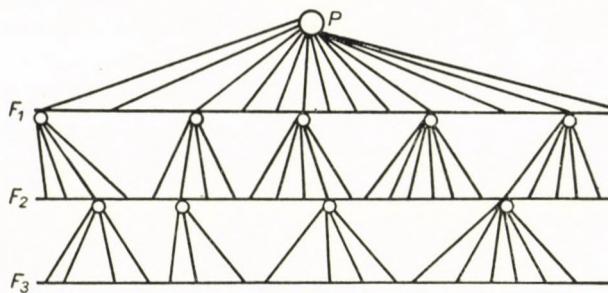


Fig. 3. Scheme of the described experiment

colony was spread on an agar slope and its resistance at 600  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . determined, an increased resistance was observed, since 10% of the introduced viable spores grew at 600  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . When, however, the culture was not prepared of an isolated colony but an appropriate dilution was spread in form of a suspension of spores (to yield isolated colonies as indicated by Fig. 3), no increase in resistance could be observed, as supported by the data of Table 12.

Table 12

Resistance of spores of a colony of  $F_3$  generation isolated at 600  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , expressed as percentage of viable counts, in repeated transfers at 600  $\mu\text{g}/\text{ml}$ .

Number of colony	Number of transfers		
	I	II	III
1	2,6—3,7	0,25	0,1
2	0,6—2,2	0,1	0,037—0,15
3	1,5	0,1	0,059

In another experiment, the problem was studied at a lower concentration of streptomycin, starting with a sensitive population, applying spores of a first-generation resistant colony isolated at 300  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . The scattered degrees of resistance may be read also from the data of Table 13 showing the results of this experiment.

Accordingly, it appears that the resistance to streptomycin is not increased by transfers in the presence of streptomycin when isolated cultures are

Table 13

*Resistance of spores of a colony of  $F_1$  generation, isolated at 300  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . expressed as percentage of viable counts, in transfers at 300  $\mu\text{g}/\text{ml}$ .*

Name of strain	Number of sensitive spores required to produce a resistant colony
Parent strain	$11,7 \cdot 10^6$
	$116,0 \cdot 10^6$
1st generation	$1,1 \cdot 10^5$ $5,0 \cdot 10^4$
2nd generation	1 resistant colony to spores over $10^4$

applied in each case. As shown by Tables 12 and 13 strains have splitting properties, because only a small portion of their spores proved resistant to streptomycin. However, this proportion could not be raised by transfers in the presence of streptomycin. It may be mentioned, nevertheless, that splitting was only examined at a given concentration where growing actually occurred. Yet, the present experiments seem to suggest that it is possible to obtain an increase in resistance to a degree where spores will be capable of growing at concentrations at which the spores of the previous generation could not grow, although these latter concentrations may range below those at which the parent spore was capable of forming colonies. On the other hand, it seems also possible that the resistance of spores expressed as a percentage of the most resistant strains (clones) increases by consecutive transfers, under keeping their splitting properties.

On the basis of these experiments, it may be concluded that the uneven distribution of streptomycin resistance — as a property of progeny — appears to be a fundamental characteristic of *Streptomyces griseus*. This is readily detectable with the use of solid media by the method described previously. When transfers are carried out with a loop on an agar slope, this phenomenon cannot be observed. The present experiments proved that transfers by loop of cultures containing only about 10% resistant spores yielded in any case viable cultures on agar slopes, i. e. proved resistant.

Accordingly, transfer by loop does not seem to be a reliable method for the determination of the degree of resistance.

Splitting occurred also in cultures on agar slopes, although only to an extent ranging below that in isolated cultures.

A characteristic example of splitting is shown by the behaviour of a strain whose degree of resistance ranged 0,01% at the third transfer at 600  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . The same resistance was observed at the fourth transfer as well while at the fifth one 0,6% of the spores proved resistant. However, at the sixth transfer,

130.000 spores gave no resistant colonies although the spores were viable in a medium free of streptomycin.

The same regularity is indicated in Table 14 showing the fate of a resist-

Table 14

Degree of resistance of *Streptomyces griseus* at consecutive transfers in an agar slope containing 600  $\mu\text{g}/\text{ml}$  of streptomycin

Number of strain	Number of transfers at 600 $\mu\text{g}/\text{ml}$	Number of resistant colonies at 600 $\mu\text{g}/\text{ml}$ , expressed as percentage of viable counts
280	1	15
	2	0,9 — 1,7
	3	92
	4	47
	5	79
281	1	8,2
	2	0,2 — 0,6
	3	0,2 — 2,0
	4	0,25 — 1,4
	5	0,01 — 4,2

ant population originating from a sensitive strain, starting with the first generation. Table 14 also proves that the degree of splitting (i. e. the ratio of the percentages representing the spores capable of growing in the presence of 600  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . of streptomycin) may show appreciable differences, even when the parent strain is almost completely similar to the colonies grown in the first instance.

The number of resistant spores was greater with mixed and diverse cultures taken from agar slopes than with colonies of the same culture grown isolated.

### Discussion

The resistance to streptomycin of *Streptomyces griseus* was found in the present experiments to be very similar to regularities observed with bacteria, as indicated by the correlation of streptomycin effect and pH values, inhibition of growth, etc. [8]. In the case of bacteria the action of streptomycin could be inhibited by a number of agents, and similar observations were made with *Streptomyces griseus* as well. However, it does not seem proper to compare quantitative examinations, in view of the diversity of media used. On the other hand, also qualitative differences exist in the inhibiting action of ions. Some phenomena, e. g. that a strain producing an antibiotic behaves similarly against

its own antibiotic as the bacteria inhibited by this same antibiotic, indicate that streptomycin may play a similar role in the metabolism of *Streptomyces griseus*, as e. g. in that of *E. coli*, as demonstrated by OGINSKY, SMITH and UMBREIT [13].

The stepwise development of resistance unveils a new characteristic of the formation of the so-called one-step resistance. It seems probable that such a method of analysis in which the properties of the individuals of a population are studied in each case (instead of transferring en masse the mixed culture of non-liquid media), may be responsible for demonstrating resistance in the form of well defined steps. However, it is also possible that this phenomenon represents a regularity characteristic in the behaviour of *Streptomyces* only.

Within the limits of these steps of concentration the majority of population are capable of growing whereas at higher concentrations only a few spores can grow. Thus, it seems correct to consider one-step resistance as a capability of a strain of growing even at concentrations exceeding that at which resistance has been acquired.

Similarly to bacteria, stability of resistance proved not to be absolute. Partial or complete reconversions may occur at consecutive transfers in media free of streptomycin.

KLEIN and KIMMELMANN [8] observed that in media free of streptomycin a variant of *Shigellae* resistant to streptomycin always occurs. It is of interest to compare this observation with the present experiments where a sensitive variant nearly always occurs among the progeny of resistant strains. Splitting of properties, the repeated appearance of properties in spite of selection has already classic examples [2, 3, 4, 5]. In the present experiments, however, the phenomenon shows a new feature in that splitting occurs also in the presence of the selecting agent. So far it seems impossible to explain this phenomenon, it may be presumed, however that, in the mycelia a process takes place which is similar to that recently observed by us in the interaction of spores when the elements participating in metabolism facilitated the growth of less resistant components.

#### REFERENCES

1. BRYSON, V., DEMEREK, M. (1950) Patterns of resistance to antimicrobial agents. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **53**, 283.
2. BUNTING, M. J. (1940) The description of some color variants produced by *Serratia marcescens* strain 274. *J. Bact.*, **40**, 57—68.
3. BUNTING, M. J. (1940) The production of stable population of color variants of *Serratia marcescens* 274 in rapidly growing cultures. *J. Bact.*, **40**, 69—81.
4. BUNTING, M. J. (1942) The distribution of color variants in aging broth cultures of *Serratia marcescens* 274. *J. Bact.* **53**, 593—606.
5. BUNTING, M. J., INGRAHAM, L. J. (1942) The distribution of color variants in aging broth cultures of *Serratia marcescens* 274. *J. Bact.*, **53**, 585—591.
6. DULANEY, E. L., RAHWAY, N. J. (1951) Production of streptomycin with a new *Actinomyces griseus* mutant. *U. S. A. Pat.* 2545572.

7. GIBSON, M. I., GIBSON, F. (1951) Development of resistance to dihydrostreptomycin by *Bact. coli*. *Nature*, **167**, 113.
8. KLEIN, M., KIMMELMANN, L. J. (1946) The role of spontaneous variants in the acquisition of streptomycin resistance by the *Shigellae*. *J. Bact.*, **52**, 471—479.
9. LURIA, S. E. (1946) A test for penicillin sensitivity and resistance in *Staphylococcus*. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **61**, 46—51.
10. MILLER, C. P., BOHNHOFF, M. (1946) Streptomycin resistance of Gonococci and Meningococci. *J. Amer. Med. Ass.*, **130**, 485—488.
11. MITCHISON, D. A. (1953) The occurrence of independent mutations to different types of streptomycin resistance in *Bacterium coli*. *J. Gen. Microbiol.*, **8**, 168—185.
12. MITCHISON, D. A. (1953) The ecology of tubercle bacilli resistant to streptomycin and isonicid. In *Adaptation in microorganism*. Cambridge Univ. Press, Cambridge, 253—275.
13. OGINSKY, E. L., SMITH, P. H., UMBREIT, W. W. (1951) The action of streptomycin on the respiration of *Streptomyces griseus*. *J. Bact.*, **61**, 639—642.
14. PANSY, F., STANDER, H., DONOVICK, R. (1952) In vitro studies on isonicotinic acid hydrazide. *Amer. Rev. Tuberc.*, **65**, 761—764.
15. RYAN, F. J., SCHNEIDER, L. K. (1948) The consequences of mutations during the growth of biochemical mutants of *E. coli*. I. The pattern of adaptation of histidinless cultures. *J. Bact.*, **56**, 699—708.
16. RYAN, F. J., SCHNEIDER, L. K. (1949) The consequences of mutations during the growth of biochemical mutants of *E. coli*. II. The inhibition of histidin independent bacteria by histidinless bacteria in unshaken cultures. *J. Bact.*, **58**, 181—189.
17. RYAN, F. J., SCHNEIDER, L. K. (1949) The consequences of mutations during the growth of biochemical mutants of *E. coli*. III. The inhibition of histidin independent bacteria by histidinless bacteria in aerated cultures. *J. Bact.*, **58**, 191—200.
18. SZYBALSKY, W., BRYSON, V. (1952) Bacterial resistance studies with derivatives of isonicotinic acid. *Amer. Rev. Tuberc.*, **65**, 768—770.
19. WAKSMAN, S. A. (1949) Streptomycin. Williams & Wilkins, Baltimore.
20. WAKSMAN, S. A., REILLY, H. C., JOHNSTONE, D. (1946) Isolation of streptomycin-producing strains of *Streptomyces griseus*. *J. Bact.*, **52**, 393—397.
21. YANIV, H., AVI-DOR, Y. (1953) Relation between changes in the stability of *Pasteurella tularensis* suspensions and in its bacterial populations. II. Mutual influence between salt-agglutinable and salt-nonagglutinable types. *J. Bact.*, **66**, 6—9.
22. ZAMENHOF, S. (1946) Studies of bacterial mutability: The time of appearance of mutant in *E. coli*. *J. Bact.*, **51**, 351—361.
23. HORVÁTH, J. (1955) Streptomycinempfindlichkeit der Sporen von *Streptomyces griseus*. *Naturwiss.*, **42**, 395.

## ИССЛЕДОВАНИЕ РЕЗИСТЕНЦИИ К СТРЕПТОМИЦИНУ У STREPTOMYCES GRISEUS

### I. Частота резистентных вариантов Образование резистанции

Авторами была исследована резистенция *Streptomyces griseus* к стрептомицину. При исследовании соотношения числа резистентных к стрептомицину особей данного штамма можно установить, что действие стрептомицина — как и у бактериев — зависит от ряда факторов среды, от питательной среды, возраста спор и т. д.

Сопротивляемость стрептомицину образуется у *Streptomyces griseus* не одноступенчато, а в виде своеобразной ступенчатой резистенции. Споры изолированной культуры, выращенной в присутствии стрептомицина, в отношении сопротивляемости стрептомицину не одинаковы. Только незначительная часть спор вырастает при такой концентрации стрептомицина, при которой была выращена культура, из которой они происходили. В отношении резистенции наблюдается варьирование, проявляющееся даже в том случае, если штамм культивировался всегда в присутствии стрептомицина, при определенном числе пересевов. При исходе из изолированных культур, в случае дальнейших пересевов в присутствии стрептомицина, соотношение при котором появились споры, обладающие сопротивляемостью стрептомицину, не повысилось. Биологическое значение этого явления может сказываться на активном приспособлении представителей рода *Streptomyces*, так как проявляется не только новое свойство, но в случае периодически проявляющихся внешних воздействий в распоряжении штамма имеются всегда также и потомки, обладающие неизменными свойствами.

## BEITRÄGE ZUR FRAGE DER STREPTOMYZIN-RESISTENZ DES STREPTOMYCES GRISEUS

### I. Häufigkeit der resistenten Varianten. Art und Weise der Resistenzentwicklung

Die Verfasser beschäftigen sich mit der Streptomycin-Resistenz des *Streptomyces griseus*. Bei der Untersuchung der Häufigkeit des Vorkommens der streptomycin-resistenten Individuen eines gegebenen Stammes konnte festgestellt werden, dass die Streptomycin-Wirkung — ähnlich den Beobachtungen bei den Bakterien — von vielen Umständen der Umgebung, vom Nährboden, vom Alter der Sporen usw. abhängt.

Die Entwicklung der Streptomycin-Resistenz des *Streptomyces griseus* erfolgt nicht in der Form einer einstufigen Resistenz, sondern in einer eigenartigen mehrstufigen Form. Die Sporen einer in Anwesenheit von Streptomycin entstandenen isolierten Kolonie verhalten sich in bezug auf Streptomycin-Resistenz verschieden. Nur ein kleiner Bruchteil der Sporen wächst bei der Streptomycin-Konzentration, bei der sich bereits die ursprüngliche Kolonie entwickelte. Eine Variation ist in bezug auf die Resistenz-eigenschaft festzustellen, die selbst auch in dem Fall eintritt, wenn der Stamm stets in Gegenwart von Streptomycin gezüchtet wurde, falls eine bestimmte Anzahl von Überimpfungen erfolgte. Die Verhältniszahl, in der die streptomycin-resistenten Sporen in Erscheinung traten, erhöhte sich nicht, wenn in Anwesenheit von Streptomycin weitere Überimpfungen erfolgten, falls man von isolierten Kolonien ausging. Der biologische Wert dieser Erscheinung kann bei der wirksamen Adaptation der *Streptomyces* beobachtet werden, denn nicht nur die neue Eigenschaft tritt in Erscheinung, sondern auch die Nachfolger mit unveränderten Eigenschaften stehen bei periodisch auftretenden äusseren Einwirkungen stets zur Verfügung des Stammes.

GÁBOR SZABÓ, Gyógyszertan, Debrecen 12, Hungary.

TIBOR VÁLYI-NAGY, Gyógyszertan, Debrecen 12, Hungary.

# INVESTIGATIONS INTO THE LAWS GOVERNING THE GROWTH OF HYPHANTRIA CUNEA DRURY CATERPILLARS

G. GERE

INSTITUTE OF SYSTEMATIC ZOOLOGY, EÖTVÖS LORÁND UNIVERSITY, BUDAPEST  
(DIRECTOR: E. DUDICH)

(Received October 16, 1955)

## Summary

The paper gives the results of observations concerning the increase in weight and, partly, the linear growth of *Hyphantria cunea* DRURY caterpillars during development. The principal results are summarized in the following:

After reaching a maximum, the weight of the caterpillars decreases until pupation so that the live weight of the pupa is hardly more than half the maximum weight of the caterpillar. The weight of the animals shows a temporary decrease during moults. This decrease, expressed as a percentage of live weight, was found to vary between 7,5 and 19,1 per cent. Part of the test animals used in the present experiments underwent five, and part of them six ecdyses. The relative increase of the live weight was observed to be extremely rapid during the first days. Also the last larval stage is characterized by particular changes in the weight of the caterpillars. During the first two or three days of this stage the rate of increase becomes gradually slower, until the process is reversed and the caterpillars begin to lose weight. The rate of the relative decrease in weight, too, shows a rising tendency first, and a slowing down after two or three days, to become once more quicker at pupation. The water content of the caterpillars, low at hatching (71,7 per cent), is found to rise considerably within a few days after eclosion (to 86,8 per cent), and to remain at a slightly lower than the maximum level until the last larval stage. The water content goes down during this stage, so that the percentage of water contained in the pupa was found to be not more than 69,7 per cent. From this it follows that while the rapid increase of live weight during the first days is due to water intake in the first line, the fall in live weight observed in the last larval stage is ascribable chiefly to the great loss of water.

The mean values of the daily increases in live weight per larval stage show an upward trend until the fifth instar, and a downward one hereafter.

The diagrams illustrating the changes in the weight of caterpillars will become clearer if we substitute the cube roots of the measured weights for their actual value. It should be noted that the curves plotted according to the cube roots of the live-weight values are fairly parallel to the curves expressing changes in the linear dimensions of the animals.

At a first approximation the increase in the weight of the caterpillars has an exponential character and roughly follows the relation  $g = g_0 e^{kt}$  (for the key to the symbols see the main body of the paper); however, on a closer inspection, it will be found that the said increase does not completely correspond to this formula, due — no doubt — to the non-uniformity of the rate of the relative (daily) increases in live weight. The growth of the head of the caterpillars in length and width also has an exponential character and follows, besides, the rule of DYAR.

The development of caterpillars reared in solitude or in small groups is somewhat slower than that of animals kept in nests with a multitude of inhabitants. Calculating the average weight of populations one finds that, while there are notable differences between single individuals as regards duration of development, the curves expressing the mean values of the increase in weight of whole populations are still quite similar to those obtained from the measurement of single individuals, except the moults and the last period of the larval stage.

## Introduction

Literature on the *Hyphantria cunea* DRURY has been fairly abundant of recent years. Most of the authors studied this animal from the point of view of plant protection. A number of papers contain fairly sufficient information about the ecology of the *Hyphantria*, and we are also in possession of data regarding their productive biology [1, 7, 8, 9]. However, works of this kind treat the problem in broad outlines only, and contain no accounts of detailed analyses. The present experiments, in which various aspects of the changes in the weight of *Hyphantria* caterpillars from hatching to pupation were studied and also the growth of their head was repeatedly measured, are an attempt at a partial remedy of this deficiency. The author hoped that the present investigations would contribute fresh data to our actual knowledge of the general principles underlying the changes in the weight of insects. Principles of this kind, if elucidated by these investigations, might be found to be applicable to other caterpillars and, possibly, to other insect larvae as well.

The present paper embodies the results of observations made during a number of years, in the course of which more than 20,000 caterpillars were measured for various purposes. This study includes but a part of the results obtained from similar measurements.

## Methods

The animals were fed the leaves of *Acer negundo* L. The shoots of the plant were kept in water, so that wilting was prevented during the rearing of the caterpillars. The windows of the laboratory were kept open during the entire course of the experiments. Smaller groups were placed in from 1 to 5-litre flasks tied up with a piece of tulle, while larger populations were kept in nursing cabinets covered with glass and wire netting. No vapour was seen to be precipitated in any of the nursing vessels, showing that relative air humidity remained always below 100 per cent. The animals were placed in the scattered light coming through the windows and never directly exposed to sun.

The animals used in the experiments were all hatched from eggs collected in the field, so that never more than one generation was kept in the laboratory.

Sometimes it was necessary to determine the temperature during experiments. Figures in the tables indicate the mean values of the daily temperature in the laboratory. These mean values never included a deviation of more than  $\pm 1^\circ$  C from the daily maxima or minima. In some cases it was not deemed necessary to record temperature or other climatic conditions.

Data in respect of the water content of the caterpillars were ascertained by comparing the live weight with their weight after a desiccation at 104° C.

## Principles underlying changes in the weight of individual caterpillars

It was thought that a detailed analysis of the changes occurring in the weight of the animals could best be realized by individual measurements. Since, however, young individuals do not tolerate the disturbance caused by daily measurements, the procedure adopted in the experiments where animals of the second generation were examined for changes of weight was to form groups

of ten from caterpillars of the same brood and to weigh daily only two of them until the fourth or fifth larval stage. After this, one or two animals of average size were selected from each of the groups and only the weight of these select-

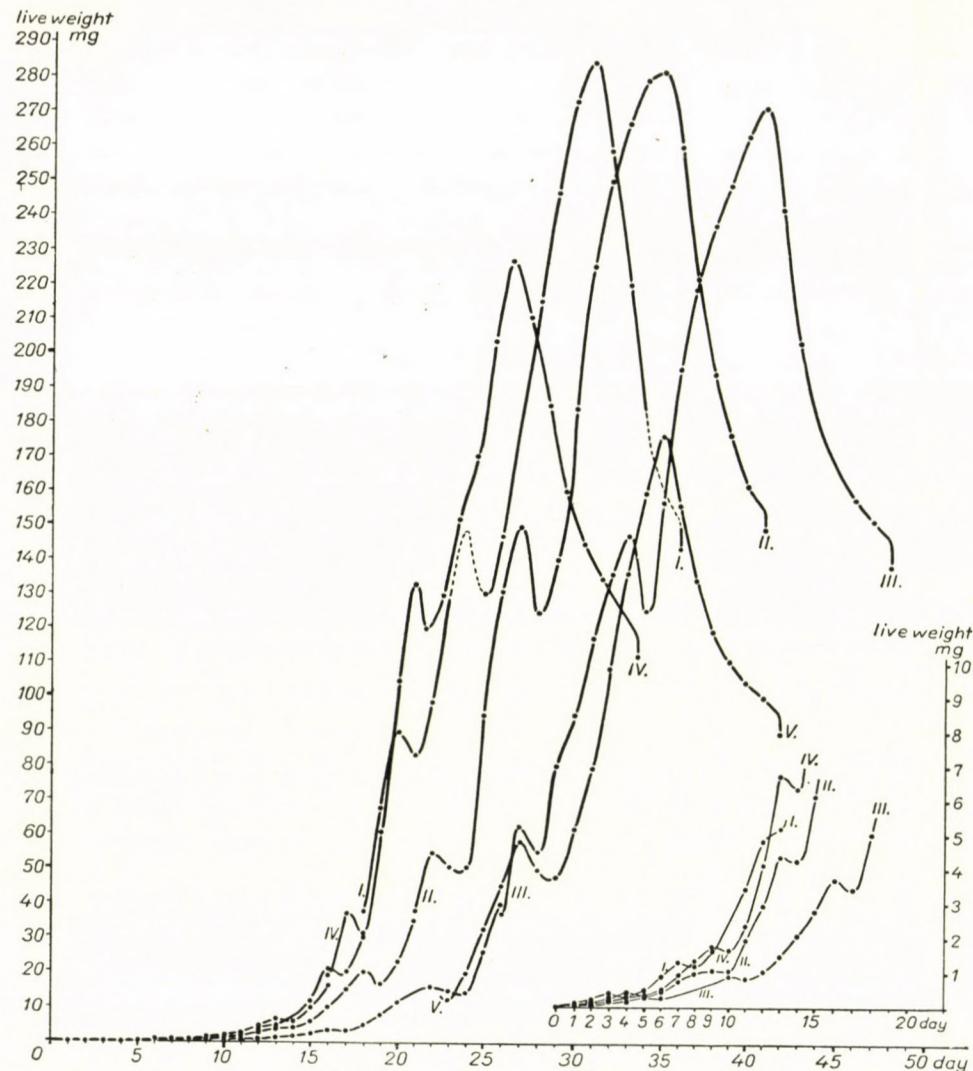


Fig. 1. Explanation in the text

ed individuals was measured until pupation. Fig. 1 illustrates the results of five series of such measurements. The figures of the diagram represent values converted to the weight of one caterpillar. The break in the curves marks the point from which only one or two animals were measured instead of groups.

Table 1

Age of caterpillars (days)	Temperature (°C)	Live weight (mg) per caterpillar, and time of moults					Change of live weight expressed as percentage of live weight on preceding day		
		Designation of caterpillars							
		1	1a	1b	Control 1	1	1a	1b	
0	22,4	0,05							
1	22,4	0,09					80,0		
2	22,6	0,14					55,5		
3	23,0	0,20					42,9		
4	22,8	0,26					30,0		
5	22,5	0,34	—				30,8		
6	22,0	0,31	M.				— 8,8		
7	21,6	0,50					61,3		
8	22,5	0,64					28,0		
9	22,3	0,78					21,9		
10	22,8	0,86	—				M. 10,3		
11	23,0	0,85	M.				— 1,2		
12	22,3	1,12					31,8		
13	21,0	1,16					30,4		
14	20,5	1,98					28,8		
15	20,0	2,70					36,4		
16	20,3	3,75	—				M. 38,8		
17	19,8	3,68	M.				— 1,8		
18	19,5	3,85					4,9		
19	20,3	6,40				9,72	66,2		
20	21,0	10,01					56,4		
21	21,0	14,27					— 42,5		
22	21,3	18,67	—			22,63 31,95	M. 30,8		
23	21,3	13,66	M.			28,36	— 26,8		
24	20,5	20,27				41,98	48,2		
25	20,8	49,67				66,20	145,0		
26	21,3	56,63	—			—	14,0		
27	21,8	69,90	M.	52,62	M.	26,23 136,50	M. 23,4		
28	22,0		—	48,62	—	89,91	— 7,5		

Age of caterpillars (days)	Temperature (°C)	Live weight (mg) per caterpillar, and time of moults					Change of live weight expressed as percentage of live weight on preceding day		
		Designation of caterpillars							
		1	1a	1b	Control 1	1	1a	1b	
29	22,0		51,42		104,61		5,7		
30	22,3		69,55	150,64	142,18		35,3		
31	22,5		110,27	213,19			58,5	41,5	
32	22,3		151,34	265,11			37,2	24,4	
33	22,0		137,30	M.	295,44		9,3	15,2	
34	22,0		122,48	M.	272,12		10,8	7,9	
35	22,3		170,24		234,15		38,9	13,9	
36	22,3		218,30		200,17		28,0	14,5	
37	19,8		257,89		189,87		22,0	5,1	
38	18,3		272,42		181,59		5,6	4,4	
39	18,0		279,34		176,68		2,5	2,7	
40	17,5		265,41		162,66*		4,9	7,9	
41	16,3		289,39				9,0		
42	15,0		272,12				5,9		
43	15,3		245,65				9,7		
44	15,3		227,25				7,5		
45	15,3		212,14				6,6		
46	15,3		200,92				5,3		
47	16,0		188,50				6,2		
48	17,0		176,87				6,2		
49	17,5		170,78				3,4		
50	18,0		166,96				2,2		
			155,74*				6,7		

\* = Animal pupated

M. = Moult

The weights of young caterpillars are represented in a tenfold magnification also.

The experiments illustrated by the diagram are presented here for the purposes of comparison only, while — for the purposes of a detailed analysis — such data are used as were obtained from the measurements of only a few caterpillars with a normal course of development. Care was taken to include in their number animals both with five and with six ecdyses. Table 1 shows the

results of a series of such and similar measurements. No. 1 in the table indicates the group of ten animals, No. 1a the single caterpillar selected from this group after the fifth moult.

Table 2

Age of caterpillars (days)	Temper-ature (°C)	Live weight (mg) per caterpillar, and time of moults					Change of live weight expressed as percentage of live weight on preceding day		
		Designation of caterpillars							
		2	2a	2b	Control 2	2	2a	2b	
16	22,3	6,66							
17	22,8	6,31					— 5,3		
18	23,0	9,26					46,7		
19	22,3	11,06					19,4		
20	21,0	16,27					M. 4 47,1		
21	20,5	17,35					6,6		
22	20,0	16,67	M. 4			35,25	— 3,9		
23	20,3	15,92				57,72	— 4,5		
24	19,8	20,70					30,0		
25	19,5	27,06				74,05	M. 5 30,7		
26	20,3	42,83				101,75 66,34	58,3		
27	21,0	60,89				83,08	42,2		
28	21,0	69,93					14,8		
29	21,3	75,10		59,14 M. 5	91,07	134,81	7,4		
30	21,3			52,32	86,67	157,47		— 11,5	4,8
31	20,5			70,75	80,77	M. 5 184,80 182,59		35,2	6,8
32	20,8			115,87	125,18	232,82 M. 6		63,8	54,9
33	21,3			149,05	161,04			28,6	28,6
34	21,8			167,16	181,49	267,81		12,1	12,7
35	22,0			187,69	211,99	277,72		12,3	16,8
36	22,0			198,54	229,02	245,92		5,8	8,0
37	22,3			169,57	206,07			— 14,6	— 10,0
38	22,5			142,60	167,56			— 15,9	— 18,7
39	22,3			132,70	147,50			— 6,9	— 11,9
40	22,0			123,50	135,68			— 6,9	— 8,0
41	22,0			118,28	129,90			— 4,2	— 4,2
42	22,3								
43	22,3		*	110,97	*	118,68		— 6,2	— 8,5

\* = Animal pupated

\*\* = Only part of animals moulted

M. = Moult

The subjects of another experiment were likewise animals of the second generation, and their weight was not measured until after their third moulting, i. e. until they reached the age of 16 days. Two caterpillars were reared to-

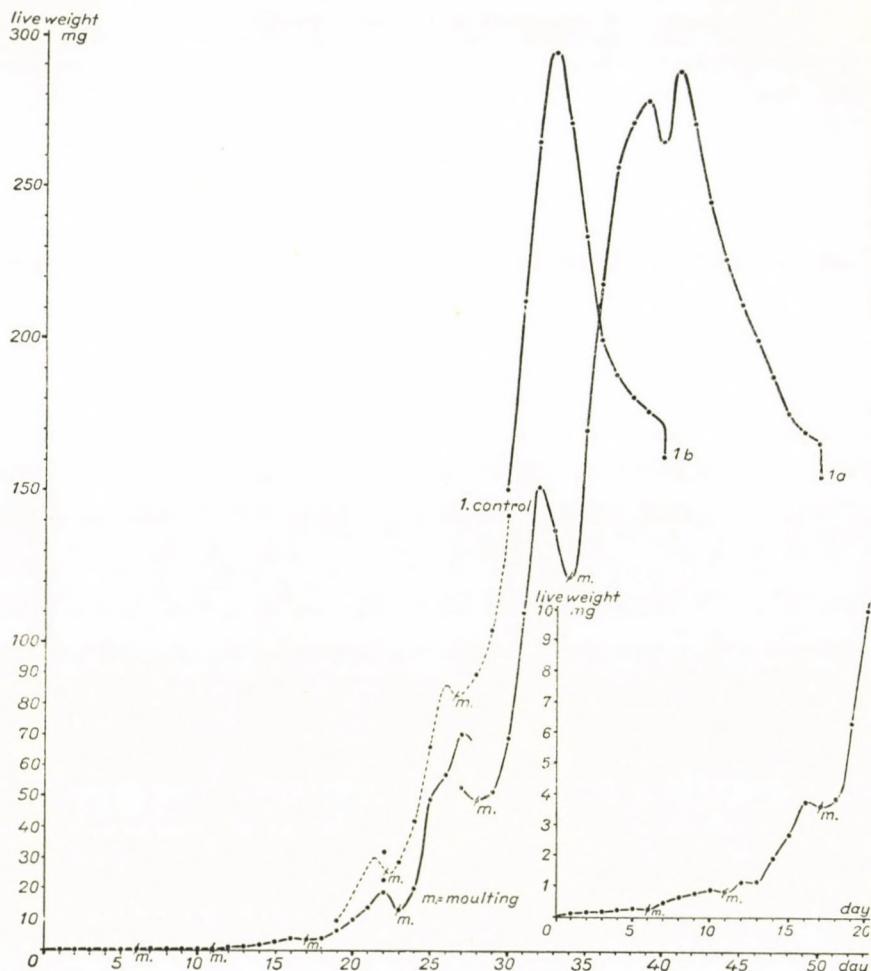


Fig. 2. Explanation in the text

gether in this experiment and, until the beginning of the fifth ecdysis, they were separated and each of them was weighed separately day by day. The results of the experiment are collected in Table 2. No. 2 in this Table indicates values obtained from the joint weighing, while Nos. 2a and 2b indicate the separate weights as from the fifth moulting of the animals.

A separate group of a hundred caterpillars, hatched simultaneously with the animals 1 and 1a, 2 and 2a, 2b, reared under the same conditions as the in-

dividually weighed caterpillars, were used as controls. These were weighed occasionally, and their live weight is shown in the columns "controls 1" and "controls 2" of the respective tables. When the controls 1 reached the age of 30 days, one of them was selected and subjected to daily weighing until pupation. Its daily weight will be found in column 1b of Table 1.

All values represented in the tables and figures refer to the weight of one animal, irrespective of whether they were obtained from the measurement of one or more individuals. Temperature was recorded during these experiments: its daily mean value will be found in a separate column of the respective tables.

The changes in the weight of all the animals bearing the serial number 1 (1, 1a, 1b) are represented also diagrammatically (Fig. 2) where the weight of young caterpillars is plotted on a separate ordinate in a tenfold magnification.

It is obvious from the tables and the figure that the caterpillars developed at a rapid rate. The extent to which their weight was found to increase under the given conditions of temperature and environment is best illustrated by the following figures: the animals with the serial number 1 (i. e. 1, 1a, 1b) reached the hundredfold of their initial live weight two days after the third ecdysis at the age of 19, and the thousandfold three days after the fourth moult at the age of 26 days; the approximately corresponding figures in respect of the animals with the serial number 2 were reached after the third ecdysis at the age of 16 days, and four days after the fourth ecdysis at the age of 27 days, respectively. It is therefore obvious that the weight curves were very similar in both experiments. Eventually, however, animal No. 1a reached a greater size than either animal 2a or 2b. While the former attained a maximum weight 5587 times that at hatching, the corresponding figures were 3971 and 4580 in the two latter animals. These maximum weights were reached on the 41st (caterpillar 1a) and the 36th day (caterpillars 2a and 2b) respectively. Animal 1a underwent six, the two others (i. e. 2a and b) only five ecdyses. It is probable that the higher number of moultings was responsible for the more protracted development of caterpillar 1a.

A comparison of the growth of the tests with that of the corresponding controls reveals the fact that while the increase in weight had a similar character in both cases, the growth of the controls went on at a quicker pace and that their maximum weight surpassed that of the tests. This is quite in accordance with the general experience that the development of caterpillars kept in solitude or in small groups lags somewhat behind that of animals reared in greater populations. Of course, the disturbance involved in the repeated weighings may have unfavourably influenced the growth of the test animals. In reading the figures indicative of the growth of the tests we must therefore bear in mind that, though quite suitable for the study of the laws that govern changes in the weight of the animals, they are somewhat lower than the values that should be regarded as normal. It should be added that the controls were of very

different sizes. For example, the smallest of the 27-day old controls 1 did not weigh more than 26,23 mg, while the biggest had a weight of 136,5 mg. The smallest of the 26-day old controls 2 weighed 66,34 mg, the largest 101,75 mg. The majority of the controls moulted five times; yet, there were a few animals among the controls 2 that underwent a sixth ecdysis at the age of about 32 days.

After reaching a maximum, the caterpillars began — as is natural — to lose weight. The loss was such that the fresh pupa of caterpillar 1a reached only 53,8 per cent of the animal's maximum weight. The corresponding percentages were found to be 54,7 for animal 1b, 55,9 for 2a, and 51,8 for animal 2b. Thus, the weight of the animals at pupation is hardly more than half their maximum weight.

These figures are in fair agreement with literary data concerning *Hyphantria* [1, 7]. The animals observed by NAGY [7] developed more quickly because of a higher temperature during the experiments.

To facilitate further observations, the daily increase or decrease in live weight, expressed as a percentage of the preceding day's weight, was kept on record in respect of animals 1, 1a, 1b, 2, 2a, and 2b. These values, too, are listed in Tables 1 and 2.

The tables and diagrams make it easy to study the various periods of growth separated by the moult of the animals. The present investigations do not enable us to determine the changes in the rate of relative growth within each of these periods, i. e. larval stages. Relying on measurements performed on not more than one or two caterpillars, and the evidence of observations outside the purview of this paper, it seems safe to assume that the rate of the relative increase in weight within each separate larval stage, except the first and last, goes upward in the first and downward in the second half of the period. This assumption appears to be confirmed by the instance of animal 1a in the 6th larval stage.

It is obvious from the figures in Table 1 that the live weight of freshly hatched animals increases very rapidly during the first days. It is fairly sure that the point of the highest rate of the relative increase in weight does not coincide with the approximative middle point of the first larval period. Also the growth in the fifth instar, as recorded in the table, presents conspicuous peculiarities. We see an isolated sudden jump in this period: though the animals did grow very rapidly at this time, the said jump must have been apparent only and was probably due to an experimental error. It is to be supposed that, of the ten animals examined on this day, the two biggest happened to have been weighed. Therefore, the growth of the two other animals weighed next day shows but a comparatively slight increase.

It has been pointed out that the last larval stage shows certain peculiarities of its own. Simultaneous measurements, made on four separate individuals, serve to disclose them. The manner in which nutritive matter is assimilated in

this period is characterized by the storage of substances of high calorific value [1]. The weight of the animals augments at an increasing rate during one or two days after the last ecdysis. After this, the rate of relative increase slows gradually down until a loss of weight sets in. The rate at which weight is lost is not uniform: it increases until the second or third day, and slows down thenceforth. Finally, during the hours of pupation, weight falls once more at a quickened rate, a phenomenon due, partly at least, to the shedding of the last skin. The general trend of the changes in weight was the same in each of the four animals, and what was striking was only the great length of the last larval stage of animal 1a. This protraction was probably due to the fact that this animal was kept at a lower temperature during the last phase of its development than the others (s. the corresponding temperature records). It will be also noted that the weight curve of this animal shows a one-day descent before reaching its peak. This was caused by the unexpected wilting of the leaf on which this animal was feeding, so that it had to fast a whole day. It is quite interesting to find that the animal made up for this regression by an accelerated growth on the next day.

Data obtained from the weighing of one or, at the most, two simultaneously moulting animals seem to be most appropriate for the determination of weight drops during ecdyses. On the evidence of such data the percentage of the loss of weight is found to have been 7,5 at the fifth and 19,1 at the sixth moult of animal 1a; 8,2 at the fourth moult of animal 2; 11,5 at the fifth moult of animal 2a; and 11,3 at the fifth moult of animal 2b. Losses of weight during ecdyses are, therefore, approximately of this order.

If we compare the changes in the live weight of the caterpillars with those in their dry weight (the latter term meaning, for the purposes of this paper, the weight determined after a desiccation at 104° C) we find various essential differences between the two. To ascertain and demonstrate these differences, the water content of differently old caterpillars, as also that of the fresh pupa, were measured and recorded in Table 3, its figures representing the mean values of 3 to 7 measurements each. It is obvious from the figures that the rapid growth in the live weight of the animals during the first days was mainly due to increased water content, and that the dry-matter content of the young caterpillars increased at a much slower rate. To demonstrate this more clearly, Table 3 also shows the daily percentage increase in dry weight over that of the preceding day during the first larval stage.\*

The situation is reversed in the last larval age when the heavy loss of live weight is due principally to loss of water. While, as we have seen, the live weight of fresh pupae hardly exceeds half the live weight of caterpillars at the time of

\* It should be noted that the water content of moulting animals has not been ascertained. The figure indicating the water content of 6-day-old caterpillars was obtained from the weighing of animals that had passed their first ecdysis.

Table 3

Age of caterpillars (days)	Larval stage	Water content of caterpillars (%)	Abs. dry weight (mg) per caterpillar (calculated value)	Change of abs. dry weight expressed as percentage of abs. dry weight on preceding day
				Caterpillars 1 and 1a
0	1	71,7	0,014	
1	1	81,5	0,016	14,3
2	1	86,1	0,019	18,7
3	1	86,8	0,026	36,8
4	1	86,8	0,034	30,8
5	1	86,8	0,045	32,3
6	1	86,8	0,041	— 8,8
10	2	84,0	0,14	
12	3	84,0	0,18	
16	3	84,0	0,60	
18	4	—	0,62	
22	4	—	2,89	
24	5	84,5	3,14	
27	5	85,0	10,48 · 7,89	
29	6	85,0	7,71	
32	6	85,0	22,70	
34	7	84,5	18,98	
41	7	78,9	61,06	
50	pupa	69,7	47,18	

their maximum size, the dry weight of the pupa amounted, in the case of caterpillar 1a, to 77,3 per cent of the dry weight of the animal at the time of its maximum size. The changes in the dry weight of animals 1 and 1a respectively, calculated from their live weight, are shown in Table 3 and illustrated in Fig. 3. The weights of young caterpillars are also shown in a ten-times magnification on a separate ordinate in the diagram.

Further conclusions can be drawn from Table 4 where various calculations concerning changes in the weight of caterpillars 1 and 1a are recorded. Mean percentage values for each separate larval stage were calculated from the data contained in the column "Change of live weight expressed as percentage of live weight on preceding day" of Table 1. Each of the global values, to be found in column 3 of Table 4, represents the average result of measurements between the time of the lowest live weight at a moult and the time of the lowest live weight at the next moult. It will be seen that, disregarding the first instar, these global values of the rate of growth rise until the fifth larval stage and drop

Table 4

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Caterpillars 1 and 1a									
Larval stage	Mean temperature at each larval stage (°C)	Mean value of live weight increases over live weights of preceding day per larval stage (%)	Same as column 3, but based on days with actual weight increase only (%)	Same as column 3 in respect of abs. dry weight (%)	Same as column 4 in respect of abs. dry weight (%)	How many times is live weight that at preceding larval stage	Same as column 7 but based on days with actual weight increase only	Same as column 7 in respect of abs. dry weight	Same as column 8 in respect of abs. dry weight
1	22,5	39,6	49,3	20,7	26,6	6,2	6,8	2,9	3,2
2	22,4	24,1	30,1	approx. 24,1	approx. 30,1	2,7	2,8	approx. 2,7	approx. 2,8
3	20,6	27,4	33,2	« 27,4	« 33,2	4,2	4,4	« 4,2	« 4,4
4	20,7	29,0	40,2	« 29,0	« 40,2	3,8	4,4	« 3,8	« 4,4
5	21,3	44,6	57,6	« 44,6	« 57,6	3,5 (4,4)	3,9 (5,1)	« 3,5 (4,4)	« 3,9 (5,1)
6	22,2	19,4	34,2	« 19,4	« 34,2	2,5	3,1	« 2,5	« 3,1
7	17,5	3,0	17,7	?	?	1,3	2,4	2,5	3,2

from that time forward. This trend of the changes remains unaltered if only those days between two successive ecdyses are taken into account on which the animals did actually gain in weight; each of the values to be found in col. 4 of Table 4 represents the average result of such measurements between the

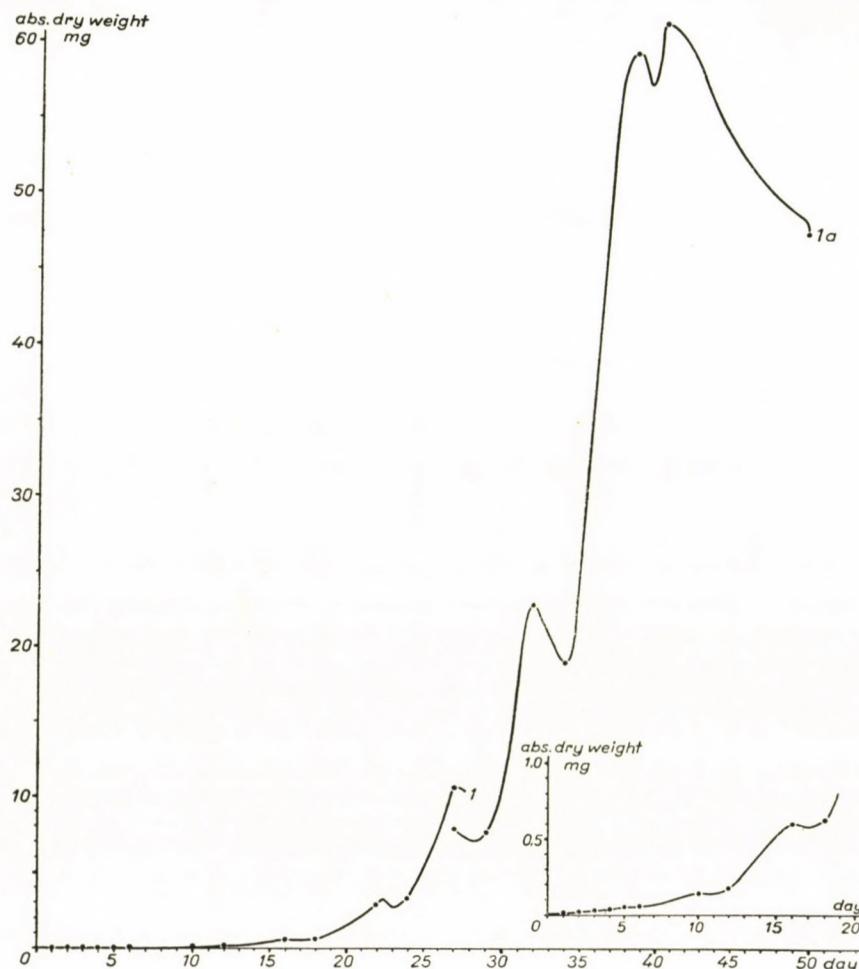


Fig. 3. Explanation in the text

time of the lowest live weight at a moult and the beginning of the weight drop at the next.

Columns 5 and 6 of Table 4 show the results of similar calculations in respect of the dry weight, except for the last larval stage concerning which no data were available. It will be noticed that, in contrast with the preceding columns, the figures for the first larval stage are lower than those for the second, so that

— as far as dry weight is concerned — the global values of the rate of relative weight increase rise right from the freshly hatched state until the fifth larval stage, the first instar constituting no exception as it does in the case of live weight. It has already been pointed out that the rapid growth of the caterpillars during the first days is due to a disproportionate intake of water, while the dry matter in the organism increases comparatively slowly at this period. It can be assumed that, because of the loss of water, the rate of increase in dry weight during the last larval stage is higher than that in respect of live weight, although the reduction of the water content during the seventh larval stage is surely not sufficient to bring about a rate of relative live-weight increase equal to or higher than that during the sixth larval age.

It is remarkable that notwithstanding the fact that the temperature of the laboratory was highest at the first, second and sixth larval stages, the relative growth of the animals proved to be most vigorous during the third, fourth and seventh larval ages. Table 4 also shows the mean value of the daily temperatures during the experiments for each separate larval stage.

Conditions in regard to the growth of the animals of the group 2 were found to be similar. These animals, too, seem to have attained the most vigorous relative growth in the fifth larval age in spite of having had only six larval stages altogether, and not seven as the animals in Table 1. The situation is no different if only the days of actual weight increase are taken into account. It is necessary to emphasize it because the fact that, for some reason, the fourth ecdysis of the animals was delayed might have obscured the issue.

To sum up : relative growth usually accelerates until the fifth larval stage and slows down thenceforward. The first larval age is an exception to this rule as the animals in their first instar grow at a specially rapid pace. It should be noted that the growth curve shows deviations from this rule in some cases. It sometimes happens that the increase in the rate of relative growth from larval stage to larval stage is not so pronounced, and it still more frequently occurs that the maximum rate of growth is reached at one of the earlier larval stages. But whatever the course of the growth curve, the above-said special shape of the first larval period and the slowing down of the rate in the last one or two periods are always manifest.

The above observations are in agreement with earlier ones [1] which showed that the capacity of the *Hyphantria* caterpillars to assimilate food-stuffs varies in the course of development. The extent to which the animals utilize the ingested food is less in their youth than at a later period of their life. The first period of poorer food assimilation is followed by one at which the animals incorporate more of the nutritive substances into their organism ; after this comes a phase in which food assimilation becomes somewhat worse once more. For the purposes of examining food assimilation we divided the life of the larvae into three phases. The first phase was the time between hatching

and the end of the second moult, the second phase lasted until the end of the fourth moult, and the third until pupation (or, more precisely, until the cessation of nutrition). The test animals moulted five times. Food assimilation during these three main phases fluctuated in the manner described above. It appears that, as is only natural, the rate of growth depends on the better or worse assimilation of nutriment.

Table 4 also contains figures to show how many times the weight at the end of each larval stage is bigger than at the end of the preceding one. These figures, contained in column 7, show a continuous diminution in the rate of increase (except the second larval stage). The caterpillars in NAGY's experiments showed a similar behaviour [7]. Also the data collected in respect of the caterpillars 2 admit of a similar conclusion. It is obvious from the figures in question that young caterpillars grow more rapidly from moult to moult than do older ones, so that animals at a later larval stage moult comparatively sooner than younger caterpillars. It will be noted that there are two figures in the fifth line of the said column. It was at this time (i. e. at the fifth larval stage) that a single caterpillar was substituted for the group of ten animals; while the first figure indicates the value based on actual measurements, the second — in brackets — indicates the theoretical value that would have supposedly been reached by animal 1a if its weight at the outset had been identical with the initial average weight of the grouped animals. Apart from slight differences, the same tendency of growth is revealed by figures obtained from similar calculations that are based on the difference between the minimum weight at one moult and the weight reached by the time it begins to drop at the next moult (Table 4, column 8). On the other hand, results will be entirely different if these calculations are based on dry weight (Table 4, columns 9 and 10). The first larval stage is no longer characterized by such disproportionately high values as in the preceding two columns, and the highest figures are displaced towards the middle of the larval life when the increase in dry weight between two successive moults is most vigorous.

Differences between the values showing the rate of weight increase attained at the different larval stages and the values expressing changes in the relative speed of growth are due to differences in the length of the larval stages.

Changes in the weight of the caterpillars can be demonstrated by the cube roots of the weights as well. Low numbers are drawn apart, and higher ones condensed, if cube roots are used instead of the numbers themselves; therefore, if this method is used in the drawing of diagrams to illustrate the growth of the animals, the great disproportion between the weight of young and that of adult caterpillars will disappear, and the diagrams become much clearer. The following consideration shows this method to offer a further advantage: supposing the animals grow in every dimension at an approximately identical rate, i. e. the proportions of their body remain more or less unchanged in the course

of growth, changes in the cube root of their weight will approximately indicate changes in their length. If this assumption be correct, the weight curve plotted according to the cube roots of the actual weights will run more or less parallel

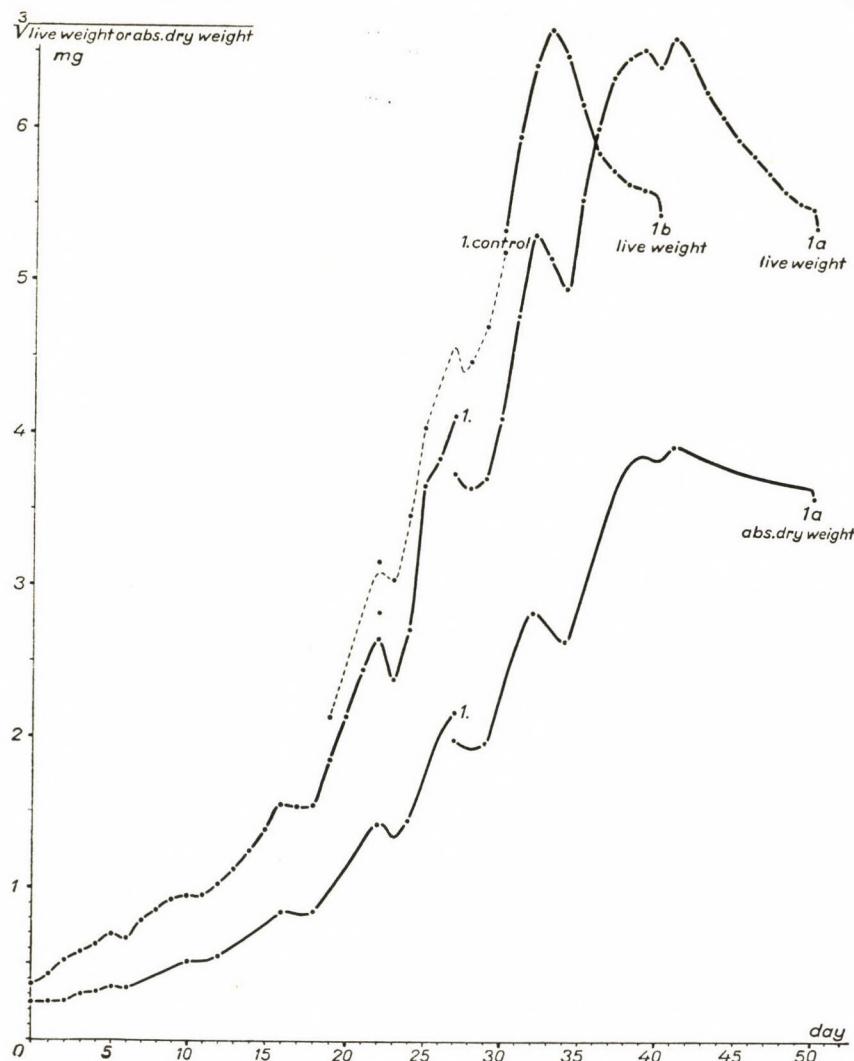


Fig. 4. Explanation in the text

with the length curve. Since there are no conspicuous differences between the proportions of the body of small and large caterpillars, the use of this method appears to be justified. Curves following the cube roots of the live weight of animals in the group 1, and the dry weight of animals 1 and 1a, are shown in

Fig. 4. According to what has been said above, this diagram facilitates the observation of differences between the change in the live weight and that in the dry weight chiefly in respect of young animals.

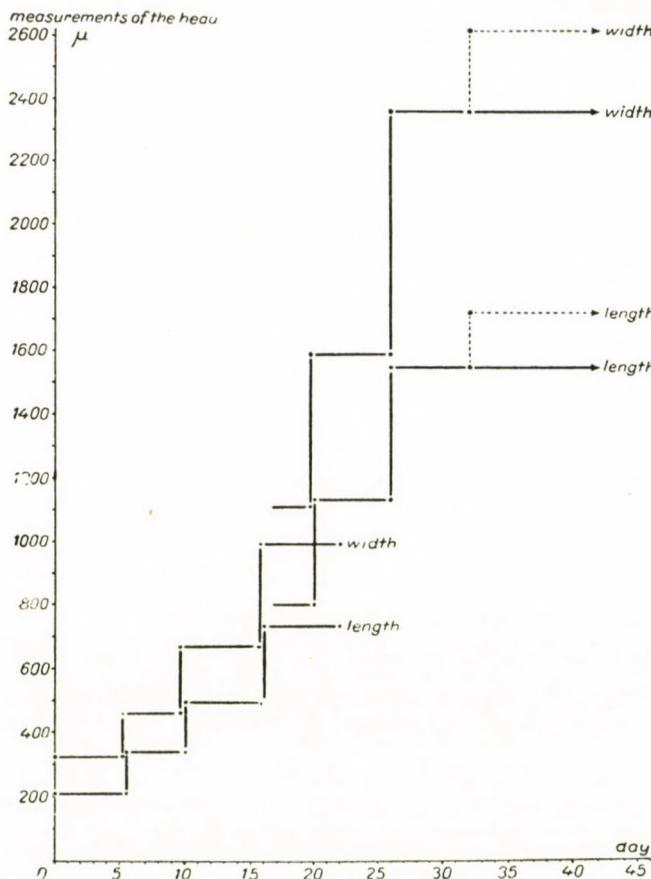


Fig. 5. Explanation in the text

#### Changes in the measurements of the head during development

It is not easy to determine with accuracy the linear dimensions of caterpillars at any time during their development. This does not apply to the head which is encased in a non-stretchable manner. In order to find a relationship between the growth in weight and that in length, the head of a few animals was measured both in length and in width. The mean results of such measurements per larval stage are shown in Fig. 5. The animals so measured were taken from two nests. The gap in the curve indicates the

time when, in the course of the measurements, we passed from the one to the other brood. The fact that this diagram strongly resembles that based on the cube root of the weight of animals differing in age, presents a practical justification of the cube-root method. The dotted line in the diagram indicates values in respect of animals that had six moults. Similar measurements made by BÖHM and PSCHORN-WALCHER [3] do not contradict the present results.

### Principles underlying changes in the weight of populations

Further experiments had the object to compare individual *Hyphantria* caterpillars with the average values of the members of whole populations in respect of changes in weight. To do so, a great number of animals had to be weighed. Each of the Tables 5, 6 and 7 shows the weights of a group of caterpillars in the course of development; the three groups were kept separately but reared simultaneously. All animals belonged to the first generation. While the members of the groups in Tables 5 and 7 were taken from various nests, those

Table 5

1st generation		
Age of caterpillars (days)	Number of caterpillars weighed	Live weight per caterpillar (mg)
6	10	0,32
16	526	12,1
20	10	33,9
22	243	56,8
26	15	89,8
28	29	176,1
29	Beginning of pupation of first caterpillar	
35	Caterpillars pupate with few exceptions	
40	Pupae : 77	Weight of one pupa : 111,0
44	Complete pupation of last caterpillar	
46	Emergence of first butterfly	

Table 6

1st generation		
Age of caterpillars (days)	Number of caterpillars weighed	Live weight per caterpillar (mg)
12	15	2,2
15	156	4,8
19	10	9,1
20	99	13,3
23	10	24,6
25	97	58,9
29	14	102,4
30	97	91,5
32	Beginning of pupation of first caterpillar	
35	Complete pupation of first caterpillar	
36	74	114,9
54	Complete pupation of last caterpillar	

forming the group in Table 6 belonged all to the same brood. Both the group in Table 5 and that in Table 7 comprised considerably more than a thousand individuals, whereas the group in Table 6 consisted of approximately three hundred members. Various numbers of caterpillars were weighed from time to time. The readings were always converted to express the average weight of one animal. It is obvious from the tables that the length of time needed for development varies even among animals reared together and under identical conditions. Such variations had the widest range among the caterpillars of Table 7 : the first to pupate was 35, the last 57 days old. The first butterfly emerged 8 days before the last caterpillar pupated. The changes in the average weight of the groups were nevertheless parallel to those of the individual caterpillars, except during moults and the last larval stage.

As regards moults, it should be noted that the differences between individual animals are not limited to the length of time they need for full development : also the point of time at which they undergo ecdysis varies from animal to animal, and so does the number of moults ; it is for this reason that the loss

Table 7

1st generation		
Age of caterpillars (days)	Number of caterpillars weighed	Live weight per caterpillar (mg)
4	10	0,40
9	10	1,7
14	1269	3,5
18	200	10,8
24	595	45,6
28	540	64,2
33	617	132,5
33	3 caterpillars pupating	
35	1 pupa, 3 caterpillars pupating	
37	Several pupae, many caterpillars pupating	
41	15	108,8
41	15	126,6
49	Emergence of first butterfly	
57	Complete pupation of last caterpillar	

of weight suffered by each individual during ecdyses becomes less pronounced if distributed over whole populations. It is nevertheless true that the majority of caterpillars reared in a nest moult more or less simultaneously so that, were we to draw a curve based on the daily average weights of all the members of a nest, it would undoubtedly show a certain flattening at the time of the moults.

By examining a still greater number of caterpillars, the laws that govern the increase in the weight of whole populations become even more pronounced. Therefore, the results of measurements performed on an additional number of animals of the first generation, reared simultaneously with those of Tables 5, 6 and 7, are shown in Table 8. The cube roots of all values contained in the said four tables are illustrated in Fig. 6. This curve, being based solely on the age of the animals and disregarding both the number of ecdyses and the time at which they occurred, is — so to say — an idealization of the curves plotted

Table 8

1st generation		
Age of caterpillars (days)	Number of caterpillars weighed	Live weight per caterpillar (mg)
0	20	0,040
0	40	0,045
0	638	0,059
0	591	0,064
5	200	0,28
7	46	0,35
8	247	0,64
11	84	1,7
12	45	3,1
19	115	18,1
20	20	32,2
29	48	108,7
32	77	143,7
33	8	161,5

according to individual measurements. This curve is no longer divided into sections by the standstills or weight drops during ecdyses, since moults in the case of such a high number of animals come to be distributed almost uniformly over the whole length of the experiment. Apart from this, it is only the end of the curve that shows a marked deviation from the "individual" curves. While the increase in the weight of individuals turns quite abruptly into a rapid decrease, the increase in the average weight of the members of a population slows down gradually and turns into a slow decrease only step by step. This is natural if we bear in mind that the length of time needed by each individual for its development is different, and if we consider the statistical character of the data on which the curve is based. The rate of increase in the average weight of the members of a population decelerates along with the increase in the percentage of animals that have attained the period of weight drop, and when their number at last outweighs that of the still growing animals, the total weight of the population will begin to diminish.

In 1949 and 1955 similar measurements were performed on caterpillars of the second generation. The population examined in 1955 was an especially large one as no less than 12 000 young animals were reared simultaneously. They were kept in groups of from 200 to 2000 members each, and various numbers of animals were taken out of the groups for measurement from time to time. Results are shown in Fig. 7.

There was a notable difference in the manner of growth between the two populations inasmuch as that of 1949 grew at a much slower pace than that of 1955. It was interesting to observe that the growth of the 1955 population was especially rapid in the first half of the larval life, a typical instance of the phenomenon that the rate of relative growth reaches its peak sometimes in a comparatively early larval phase.

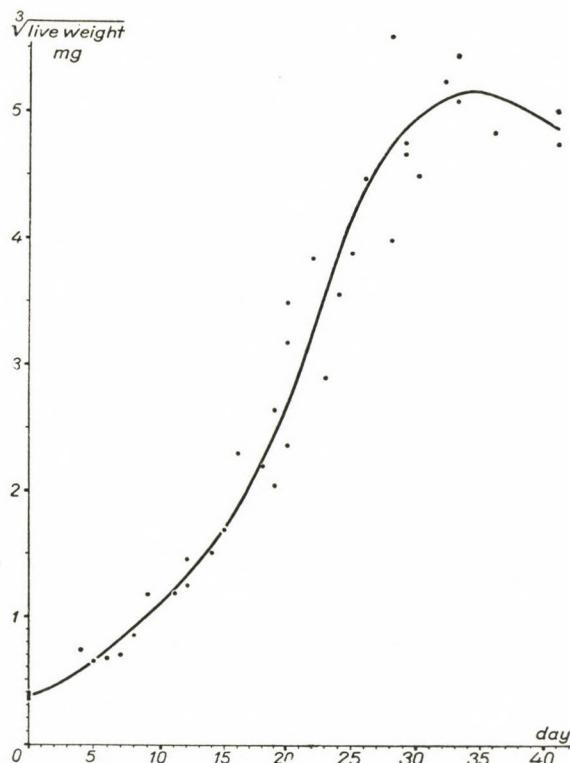


Fig. 6. Explanation in the text

Environmental factors in the laboratory seem not to be sufficient to explain the differences in the growth of the two populations: neither conditions of air humidity and temperature nor other external influences were sufficiently different to fully account for them. While it is possible that the two populations have a different innate capacity of growth, it is likewise possible that the general acclimatization of the species, new to Europe, had progressed from 1949 to 1955. This hypothesis may also explain the experience that the majority of the test animals used a few years ago moulted only five times, while there are always more and more individuals with a higher number of moults among the caterpillars used in current experiments.

The fact that the growth curve of the caterpillars of the first generation in Fig. 6 lies between the two curves illustrating the growth of the two populations in Fig. 7, favours the conclusion that, as regards growth, there is no essential difference between animals of the first and second generation.

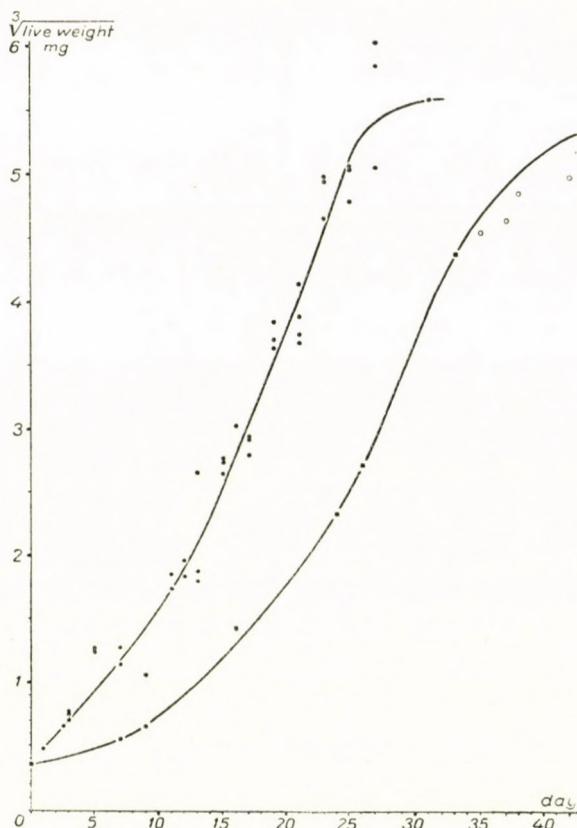


Fig. 7. Solid circles — weights of caterpillars in 1955 ; hollow circles — weights of pupae in 1955 ; solid squares — weights of caterpillars in 1949. Further explanation in the text

#### Exponential character of the growth of caterpillars

It has been pointed out by the authors, in BERTALANFFY's work [2] among others, that changes occurring in the weight of insects can be expressed by the following exponential equations :

where  $g = g_0 e^{kt}$ , and  $\log g = \log g_0 + kt \log e$ ,  
 $g$  = the weight of the animal on the "t"th day,  
 $g_0$  = the weight of the animal at hatching,  
 $t$  = the animal's age in days,  
 $k$  = the constant of weight increase.

The value of the constant depends on the specific characteristics of the insect in question, with due regard to the response of the relevant life functions to changes in the environmental influences.

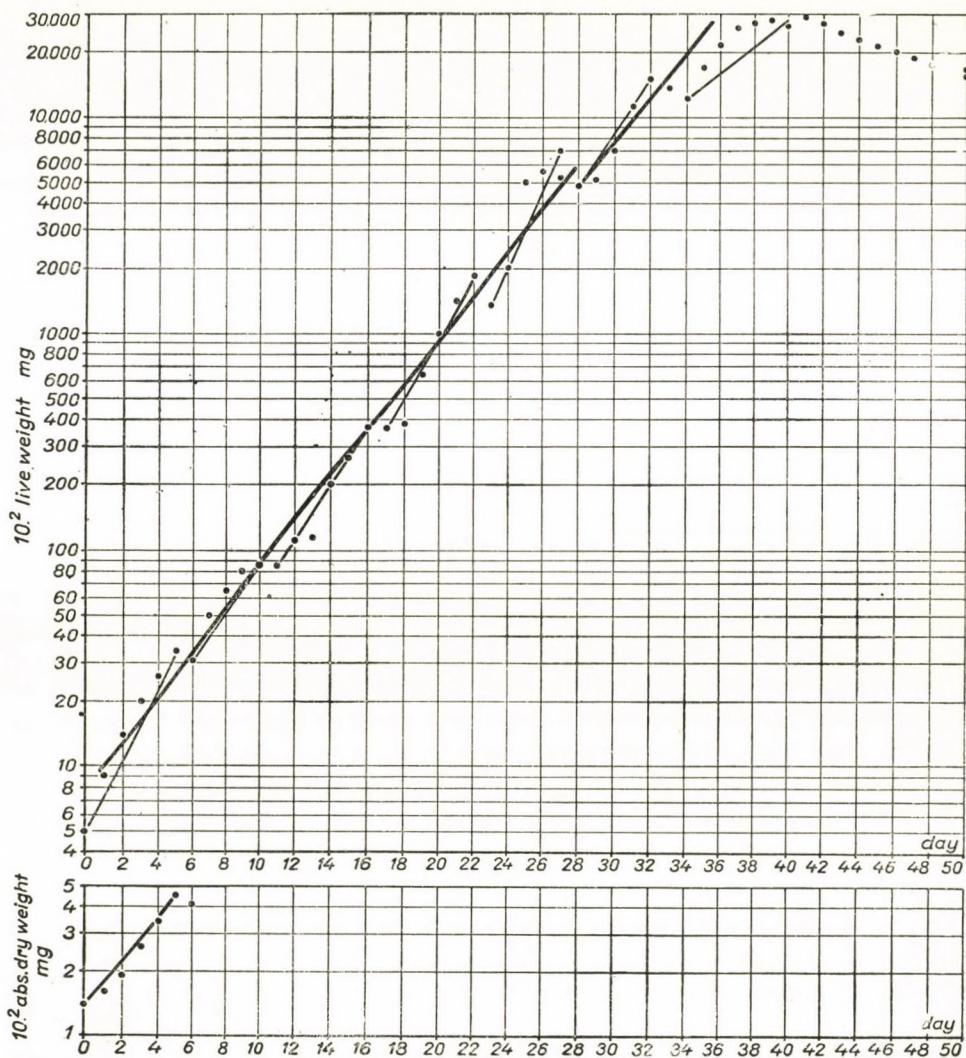


Fig. 8. Explanation in the text

According to the above formulae, the logarithm of the body weight of growing insects is a straight line if expressed as a function of the number of days, provided there occurs no change in the environmental factors during growth. In order to ascertain the applicability of this rule to *Hyphantria* caterpillars, the daily changes in the live weight of animals 1 and 1a were illustrated on a

logarithmic scale to be found in the upper part of Fig. 8. It will be seen that, disregarding the time of ecdyses, the curve is almost a straight line. It would flatten out to a perfect straight only if the rate of relative growth were to remain constant throughout the whole development. It does change, however, from larval stage to larval stage as has been shown further above. How the rate of relative growth changes during larval life can be well observed in Fig. 8 ; we see that the straight lines which indicate the rate of growth as observed in our caterpillars in the successive larval stages become steeper and steeper until the fifth larval stage and flatten out more and more during the sixth and seventh. The first larval stage, where the straight line has a steep course, forms an exception. When plotting the straights in question, only days with actual weight increases were taken into account. Changes observed in the value of the constant in respect of animals 1 and 1a are recorded in Table 9.

Table 9

Value of constant of weight increase	In larval stage						
	1	2	3	4	5	6	7
from moult to moult .....	0,30	0,20	0,24	0,22	0,31	0,15	0,016
from time of moult to time of max. weight before next moult .....	0,38	0,25	0,30	0,32	0,41	0,28	0,14

The logarithmic illustration of the change in the dry weight of animals 1a during the first larval age is contained in the lower part of Fig. 8. Here, too, there is a striking difference between the live- and the dry-weight curve during the first three days. This portion is much steeper in the upper, and much flatter in the lower, curve than the rest. This is one more illustration of the fact that live weight increases with great rapidity during the first days because of the excessive water intake, while the pace at which the dry weight is growing during these days is slower than in the subsequent phases of development.

No exponential equation to express the fall in weight at the last larval stage has been found.

The changes in the measurements of the head of the caterpillars follow DYAR's rule [5] according to which the values of the head's length and width in the successive larval states form a geometrical progression. The value of the head's length or width at any larval stage can be obtained by means of the following formula :

$$l_n = l_1 c^{n-1}, \text{ where}$$

$l_1$  = length or width of the head in the first larval stage,

$n$  = serial number of the larval stage in question,

$c$  = constant of head's linear growth.

This shows that there is a constant ratio between the measurements of the head from larval stage to larval stage. The results of such calculations in respect of the caterpillars that form the subject of Fig. 5 are collected in Table 10.

Table 10

Larval stage	How many times bigger than corresponding figures at preceding larval stage	
	length	width
	of caterpillars' head	
2	1,64	1,44
3	1,46	1,44
4	1,49	1,49
5	1,42	1,43
6	1,37	1,48
7	1,11	1,11

The correctness of the above formula is substantiated by the figures in the table; the reduction in the rate at which the head is seen to have grown at the seventh larval stage may be due to a general decrease in growth at this period. On the other hand, the comparatively rapid growth of the length of the head after the first moult (second larval stage) may perhaps be due to the development of the mouth organs which begin functioning after the embryonic age.

That the measurements of the head, if expressed as the functions of time, grow likewise exponentially is evident from Fig. 9 where the data of the animals figuring in Fig. 5 are illustrated logarithmically on the ordinate.

It was now attempted to ascertain how the rule of exponential growth applies to whole populations. This was done by reading the cube-roots of the live weights from Fig. 6 every fifth day, and preparing a new diagram (Fig. 10) from such readings. It will be seen that the curve so plotted closely follows the straight line drawn in the diagram. It is therefore evident that the increase in the average weight of the members of whole populations has an ideally exponential character, at least during the greatest part of development, since the change in the rate of growth from one larval stage to the next is no longer demonstrable on this scale. This is due to the above-mentioned fact that the individual members of populations need periods of different length for their development, and that also the total number of moults varies from animal to animal. The greater rapidity of growth during the first days is, however, evident even in this diagram; in this respect we have to keep in mind that the animals develop fairly uniformly during the first days of their larval life and that

individual differences do not yet manifest themselves at this time. Also the above-discussed peculiar character of the change in the average weight of the members of populations before pupation is clearly observable in the diagram.

The rate at which members, of about the same age within a population, increase their weight is — as is evident from the above — indicated by the constant of the exponential equation characteristic of the species examined.

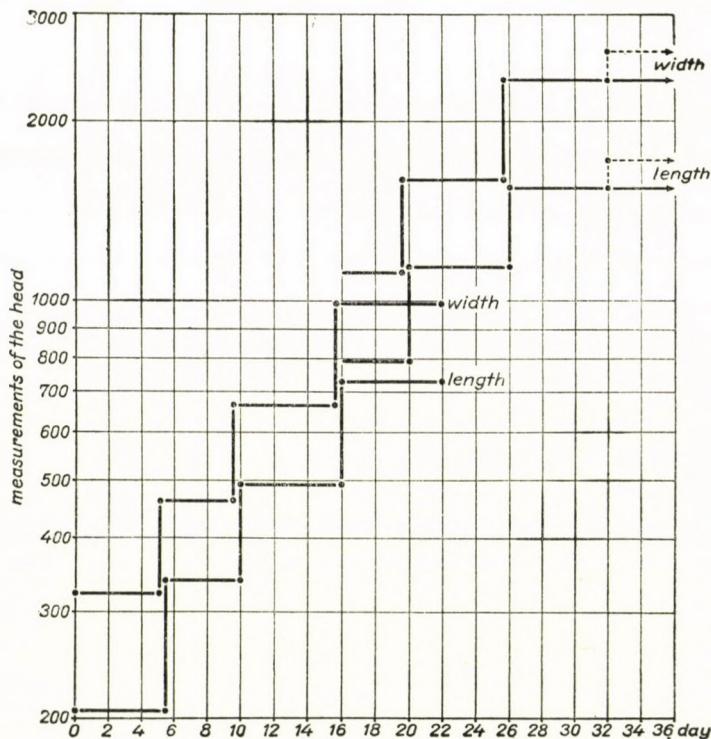


Fig. 9. Explanation in the text

If, therefore, the value of the constant is determined under various conditions, or, in other words, if we ascertain how its value changes under the influence of varying environmental factors (temperature, air humidity, etc.), in possession of such information we are in a position to compute the average weight of the members of populations for any one day during their development, with the exception of the period immediately preceding pupation. The fact that the rapidity of growth is higher during the first days than later need not be taken into consideration, as the energy turnover of the animals at this time is negligible because of their small size.

Although the present investigations were not extended to the laws that govern the changes in the weight of populations towards the end of larval life,

it may safely be assumed that, under given environmental conditions, their character can no less be determined than that of the said changes during the earlier periods.

It goes without saying that when performing the above-described calculations with a view to determining the change in the total weight of a population, due regard must be paid to any decrease in the number of its members in the course of development.

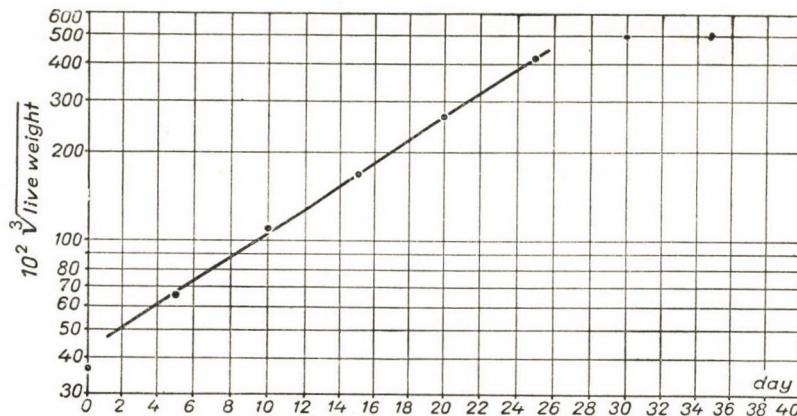


Fig. 10. Explanation in the text

Both theoretical considerations and investigations described in the literature make it probable that the principles which underlie the growth of *Hyphantria* caterpillars may be applied to the development of other Lepidoptera and possibly to that of other insect larvae as well.

It is hoped that the data contained in this paper will facilitate the determination of changes in the weight of populations of caterpillars during growth, and that a facility of this kind may prove useful from the point of view of ecology and plant protection.

My thanks are due to Mr. J. BALOGH whose suggestions concerning the subject proved very valuable. At the same time I wish to acknowledge the collaboration of Mr. G. WOLF who gave me useful assistance in the mathematical part of the work.

#### REFERENCES

1. BALOGH, J., GERE, G. (1953) Über die Ernährungsbiologie und Luftstickstoffbindung der *Hyphantria*-Raupen. *Acta Biol. Hung.*, 4, 431—452.
2. BERTALANFFY, L. (1942) Theoretische Biologie. II. Borntraeger, Berlin-Zehlendorf.
3. BÖHM, H., PSCHORN—WALCHER, H. (1952) Biologie und Bekämpfung von *Hyphantria cunea* DRURY. *Pflanzenschutz-Berichte*, 9, 105—152.
4. GERE, G. (1951) Vizsgálatok a lisztmoly (*Ephestia kuehniella* Z.) táplálkozásbiolójáról. Investigations regarding the nutritive biology of the flour moth. *Ann. Biol. Univ. Hung.*, 1, 51—64. (In Hungarian, English summary.)

5. IMMS, A. D. (1948) A general textbook of entomology. Methuen, London.
6. LE CROS CLARK, W. E., MEDAWAR, P. B. (1945) Essays on Growth and Form. Presented to D'ARCY WENTWORT THOMPSON. Clarendon Press, Oxford.
7. NAGY, B. (1953) Der Nahrungsverbrauch der Raupe des amerikanischen weissen Bärenspinners (*Hyphantria cunea* DRURY) unter konstanten Verhältnissen. *Acta Agronom. Hung.*, 3, 215—223.
8. NAGY, B., REICHARDT, G., UBRIZSY, G. (1953) Amerikai fehér szövőlepke (*Hyphantria cunea* DRURY) Magyarországon. Der amerikanische weisse Bärenspinner (*Hyphantria cunea* DRURY) in Ungarn. *Mezőgazdasági Kiadó*, Budapest. (In Hungarian, German summary.)
9. VINCZEFFY, I. (1952) Az amerikai fehér szövőlepke (*Hyphantria cunea* DRURY). The American Fall Webworm (*Hyphantria cunea* DRURY). *Ann. Fac. Agronom. Univ. Agricult.*, 83—116. (In Hungarian, English summary.)

## ИССЛЕДОВАНИЕ ЗАКОНОМЕРНОСТЕЙ РОСТА ГУСЕНИЦ HYPHANTRIA CUNEA DRURY

Автор излагает результаты исследования привеса и отчасти продольного роста гусениц *Hyphantria cunea* Drury во время их развития. Важнейшие результаты автора сводятся к следующему: после достижения определенного максимального веса, вес гусениц уменьшается до достижения кукольного состояния в такой степени, что живой вес куколок едва превышает половину максимального веса гусеницы. В ходе линек вес животных уменьшается. В таком случае уменьшение веса равнялось 7,5—19,1%, применительно к живому весу животных. Исследованные животные линяли отчасти пять, а отчасти шесть раз. Скорость относительного повышения живого веса животных особенно велика в первые дни. Условия веса своеобразно проявляются в последней личиночной стадии. В начале этой стадии скорость роста повышается в течение нескольких дней, после чего она становится все медленнее, а затем вес гусениц начинает уменьшаться. Темп относительного уменьшения веса показывает в течение двух-трех дней также ускорение, затем проявляется замедляющаяся тенденция, и повышение веса наблюдается только в часы преобразования в куколку.

При вылуплении из яиц содержание воды в гусеницах низкое (71,7%), но в течение нескольких дней оно сильно повышается (86,8%), и затем останавливается вплоть до последней личиночной стадии на величине, несколько ниже последней величины. В этой стадии, однако, содержание воды вновь начинает уменьшаться, и в куколках наблюдалось уже лишь 69,7 процентное содержание воды. Из этого следует, что наблюдаемая в первые дни большая скорость повышения живого веса гусениц является главным образом результатом приема воды, далее и то, что значительная часть потери веса в последней личиночной стадии обуславливается большой потерей содержания воды.

Среднее ежедневно определенного повышения живого веса животных, исчисленное по отдельным личиночным стадиям, проявляется в большинстве случаев до пятой личиночной стадии повышающейся, а затем уменьшающейся тенденцию.

Если условия веса гусениц выражаются величиной  $\sqrt[3]{V}$ , извлеченной из веса животных, то графическое изображение становится более наглядным. Вместе с тем заслуживает внимание и то обстоятельство, что величины  $\sqrt[3]{V}$ , извлеченные из живого веса животных, в общем и целом изменяются параллельно размерам длины животных.

На первый взгляд повышение веса гусениц показывает экспоненциальный характер, и следовательно, в больших чертах оно происходит согласно зависимости  $g = g_0 e^{kt}$  (объяснения букв см. в тексте), однако, при более основательном наблюдении выявляется, что — соответственно неравномерному характеру скорости относительного повышения веса — привес личинок в некоторой степени отклоняется от вышеупомянутой зависимости. Рост длины и ширины головы гусениц также носит экспоненциальный характер, и следует закону Диара.

Выращенные одиночно, или же в небольших группах гусеницы проявляли более медленное развитие, чем те, которые выращивались в гнездах с многочисленными животными. Исследование среднего веса членов гусеничной популяции доказывает, что несмотря на то, что длительность развития отдельных особей весьма различна, графическая кривая, полученная на основании повышения их среднего веса, весьма подобна графикам, построенным на основании измерений отдельных особей, не принимая во внимание срок линек и конечную фазу личиночной стадии.

## UNTERSUCHUNG DER GESETZMÄSSIGKEIT IM WACHSTUM DER HYPHANTRIA CUNEA DRURY RAUPEN

Der Verfasser beschäftigt sich in seiner Arbeit mit der Untersuchung des Gewichtes und teilweise auch des Längswachstums der *Hyphantria cunea* DRURY Raupen während ihrer Entwicklung. Er gelangt zu folgenden wichtigen Feststellungen. Das Gewicht der Raupen nimmt, nach Erreichung eines gewissen maximalen Gewichtes, bis zur Einpuppung in dem Masse ab, dass das Lebendgewicht der Puppe kaum die Hälfte vom maximalen Gewicht der Raupe beträgt. Bis die Raupe ihr maximales Gewicht erreicht, nimmt das Gewicht der Tiere während der Häutungen vorübergehend ab. Die um diese Zeit gemessene Gewichtsabnahme schwankte zwischen 7,5—19,1% des Lebendgewichtes der Tiere. Die untersuchten Tiere häuteten sich fünf- bis sechsmal. Die Geschwindigkeit mit der das relative Lebendgewicht der Raupen in den ersten Tagen zunimmt, ist auffallend gross. Ganz eigenartig gestalten sich die Gewichtsverhältnisse auch im letzten Larvenstadium, zu dessen Beginn sich die relative Gewichtszunahme 1—2 Tage lang beschleunigt. Dann wird sie immer langsamer, bis schliesslich das Gewicht der Raupen abnimmt. Auch das Mass der relativen Gewichtsabnahme ist 2—3 Tage lang stärker, zeigt dann eine sich verlangsamende Tendenz und steigt wieder nur in den Stunden der Einpuppung.

Der Wassergehalt der Raupen ist zum Zeitpunkt des Ausschlüpfens gering (71,7%), steigt aber innerhalb einiger Tage stark an (86,8%) und verharrt, mit einer ganz geringen Abnahme, bis zum letzten Larvenstadium bei diesem Wert. Dann nimmt der Wassergehalt wieder ab und sinkt in der Puppe auf 69,7%. Daraus ergibt sich, dass die bei den Raupen in den ersten Tagen gemessene schnelle Lebendgewichtszunahme zum grössten Teil nur eine Folge der Wasser- aufnahme ist. Ferner kann daraus gefolgt werden, dass sich ein ansehnlicher Teil des im letzten Larvenstadium festgestellten Gewichtsverlustes aus dem bedeutenden Verlust an Wasser ergibt.

Der aus dem täglich festgestellten relativen Lebendgewicht der Tiere pro Larvenstadium summarisch gezogene Durchschnitt zeigt meistens bis zum 5. Tag eine steigende, dann eine abnehmende Tendenz.

Die graphischen Darstellungen gewinnen an Übersichtlichkeit, wenn wir die Gewichtsverhältnisse der Raupen mit dem aus ihrem Gewicht gezogenen  $\sqrt[3]{\cdot}$  Wert ausdrücken. Daneben verdient der Umstand erwähnt zu werden, wonach sich die aus dem Lebendgewicht der Tiere gezogenen  $\sqrt[3]{\cdot}$  Werte im grossen ganzen parallel mit den Längsmassen der Tiere ändern.

Die Gewichtszunahme der Raupen ist auf erster Annäherung exponential und folgt dementsprechend in grossen Zügen dem Zusammenhang  $g = g_0 e^{kt}$ . (s. Erklärung der Buchstaben im Text.) Die nähere Beobachtung zeigt jedoch, dass die Gewichtszunahme — dem nicht gleichmässigen Charakter der relativen Gewichtszunahme-Geschwindigkeit entsprechend — davon einigermassen abweicht. Auch Länge und Breite des Kopfes der Raupen wachsen exponential. Daneben richtet sich das Wachstum nach der DYAR-Regel.

Die einzeln oder in kleineren Gruppen gezüchteten Raupen entwickeln sich etwas langsamer als die Tiere, die in von zahlreichen Raupen bewohnten Nestern leben. Die Untersuchung des Durchschnittsgewichtes bei den Mitgliedern der Raupenpopulationen beweist, dass die auf Grund der Gewichtszunahme erhaltene graphische Kurve, obwohl die Entwicklungsdauer der einzelnen Tiere recht verschieden ist, dennoch den auf Grund der Einzelmessungen erhaltenen Graphikonen ähnlich ist, abgesehen von der Zeit der Häutungen und der Endphase des Larvenzustandes.

GÉZA GERE, Budapest, VIII., Puskin u. 3., Hungary.

# REIZPHYSIOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN AN ZILIATEN

## V. ZUM PHYSIOLOGISCHEN MECHANISMUS DER SOG. FLUCHTREAKTION UND DER RAUMORIENTIERUNG

B. PÁRDU CZ

UNGARISCHES NATURWISSENSCHAFTLICHES MUSEUM, BUDAPEST (VORSTAND: I. BOROS

(Eingegangen am 20. Oktober 1955)

### Zusammenfassung

Die zweite Phase der typischen JENNINSSCHEN Fluchtbewegung, die sog. Kegelschwung, gehört nicht zur Reaktion selbst, sondern ist bereits die äussere Erscheinungsform des Rückregulationsprozesses. Der von der Fluchtreaktion übriggebliebene Bewegungsanteil, das Rückwärtsschwimmen, stellt die maximale überhaupt mögliche Bewegungsantwort des *Paramecium* dar: die normale Schlagrichtung jeder einzelnen Zilie wird für einige Zeit völlig umgestellt. Hieraus folgt der stereotype Charakter der Reaktion (»Motorreflex«), die trotzdem, zumindest unter natürlichen Umgebungsverhältnissen, relativ zur Reizquelle bestimmt gerichtet ist.

Anstatt dieser vollständig durchgeführten Bewegungsantwort lösen unterschwellige Reize verschiedene Varianten von Teilhandlungen aus. Die Schlagebene der Zilien verdreht sich dann in jeweils verschiedenen Bezirken der Körperfläche von fallweise verschiedenem Ausmass in einem jeweils unterschiedlichen Winkel übergangsweise im Vergleich zur normalen Richtung. Die einfachste Vermeidungsbewegung und das anhaltende Rückwärtsschwimmen sind nur der untere und der obere Grenzfall ein und desselben Reaktionsprozesses. Die gemeinsame physiologische Basis sämtlicher Orientierungsreaktionen ist jene Eigenschaft des Protoplasmas, dass es an jedem beliebigen Gebiet des Körpers je nach dem Wirkungsgrad und Angriffspunkt des Reizes in verschiedener Stärke und Ausdehnung in Erregungszustand gerät. Dementsprechend werden die die normale Zilientätigkeit primär regulierenden Koordinationsimpulse durch die sich vom Reizungspunkt ausbreitenden Erregungswellen eine kürzere oder längere Zeit entweder partiell modifiziert oder völlig unterdrückt.

Obwohl die *Paramecium*-Zelle rundherum praktisch gleich stark empfindlich ist, so ist es seitens des Organismus im Wesen dem obigen einfachen physiologischen Prozess sowie der Motilität der Bewegungsorganelen und ihrer gleichförmig dichten Verteilung an der ganzen Körperoberfläche zu verdanken, dass sich an Stelle einer umständlichen Probierungsmethode bereits die unmittelbaren, also rationalen Formen der Reizbeantwortung in zahlreichen Varianten und in mehreren Stärkegraden verwirklichen konnten. Die Ablaufzeit der »Motorreflexe« hängt dabei von der Stärke des überschwwelligen Auslösungsreizes ab, während die Zeittdauer der Teilreaktionen vom Wirkungsbereich des unterschweligen abstossenden Reizes bedingt ist.

### Problemstellung

Es wurde unlängst versucht, auf Grund der an fixierten »Momentaufnahmen« erhaltenen und am lebenden Objekt nachgeprüften Angaben eine Vorstellung über die Dynamik der Reizbewegungen und über den Orientierungsmechanismus der einzelligen Organismen im allgemeinen zu gewinnen [8]. Die bisher erhaltenen Ergebnisse sprachen dafür, dass unsere Kenntnisse über die Beteiligung der lokomotorischen Organellen an der Ausführung der Bewegungsreaktionen des Körpers — selbst bei einem so gründlich untersuchten Objekt, wie *Paramecium* — noch einer eingehenden Nachprüfung bedürfen.

So stellte es sich unter anderem heraus, dass dem *Paramecium* zur Beantwortung der Reize eine viel grössere Mannigfaltigkeit von Bewegungsmöglichkeiten zur Verfügung steht, als bisher allgemein angenommen wurde. Schon diese Tatsache selbst, sowie auch ein flüchtiger Einblick in den oft verwickelten Vorgang dieser Reizgeschehnisse wies darauf hin, dass die meisten Thesen der sog. »Versuchs- und Irrtumstheorie« unhaltbar sind. Zur besseren Erkenntnis

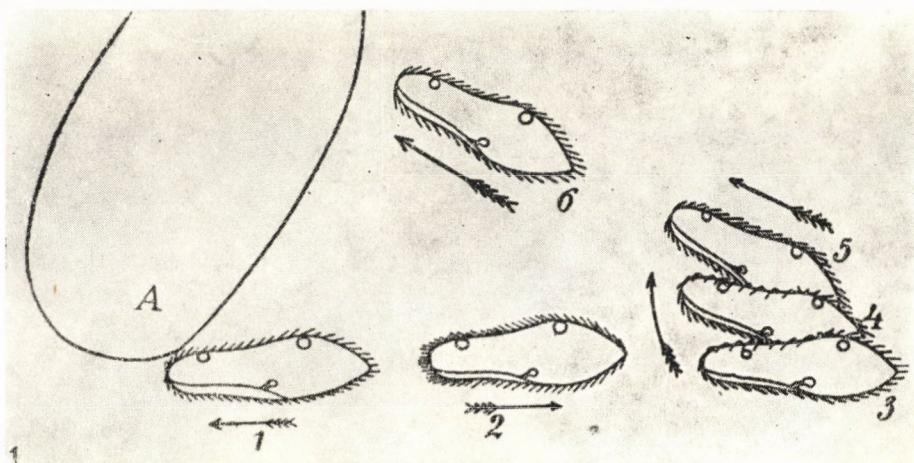


Abb. 1. Schematische Darstellung der Fluchtreaktion von *Paramecium*. A: Umriss eines festen Körpers oder einer anderen Reizzone. 1—6: Folge der nacheinander eingenommenen Bewegungsstellungen. Die Rotation des Tieres um seine Körperachse während der Reaktion kommt in der Zeichnung nicht zum Ausdruck (nach JENNINGS)

der Gesetze, die das Verhalten gegenüber den Einwirkungen der Aussenwelt beherrschen, ist allerdings die Untersuchung noch weiterer, teils neu aufgetauchter Fragen notwendig.

Von besonderem Interesse für das Orientierungsproblem kann die in den vorerwähnten Untersuchungen gemachte Feststellung gelten, dass die Tiere auf mechanische, chemische und thermische Einflüsse ihrer natürlichen Umgebung nicht mit »Suchbewegungen«, sondern mit den verschiedensten einfachen und einmaligen Bewegungsänderungen reagieren, durch die sie, vom Zustand der Reizung direkt befreit, sofort zu ihrer normalen Bewegungsweise zurückkehren können.

Dieser Befund war begreiflicherweise ein recht unerwartetes Ergebnis, da ja nach der herrschenden Ansicht die betreffenden Reizarten blass ein und denselben Reizerfolg, nämlich die sog. Fluchtreaktion (Abb. 1) bzw. deren abgekürzten Teilhandlungen hervorrufen können. Diese universelle Bewegungsantwort soll aber ausserdem, wie bekannt, relativ zur Reizquelle eigentlich ungerichtet sein, so dass das Tier erst durch mehrmalige Wiederholung des

ganzen Bewegungskomplexes, also durch ein langwieriges Probierverfahren, aus der Zone des unangenehmen Reizes herauskommen könnte.

Aus der Kausalanalyse der gefundenen kurzen Einzelreaktionen stellte es sich aber auch heraus, dass sie keineswegs als etwaige abgekürzte Varianten der JENNINSSCHEN Fluchtreaktion zu deuten sind, sondern dass sie ausnahmslos auf verschiedene selbständige Zilienmechanismen zurückgeführt werden können. Die Erklärung für die Promptheit, mit der der richtig orientierte Zustand gewöhnlich erreicht wird, wurde in den meisten Fällen in der lokalisierten bzw. einseitigen Wirkung des angreifenden Reizes gefunden. Mit Berufung auf die Resultate von Lebenduntersuchungen wurde gleichzeitig auch darauf hingewiesen, dass die typische, aus drei Phasen zusammengesetzte Fluchtreaktion selbst unter natürlichen Umgebungsverhältnissen so selten zur Anwendung kommt, dass man dieser Reaktionsweise in dem Prozess der Raumorientierung kaum eine besondere Bedeutung zuschreiben kann.

Diese Feststellungen werfen zwangsläufig eine alte, doch seit den Untersuchungen KÜHNS [4] als überholt betrachtete Streitfrage der Verhaltensforschung wieder auf, wenngleich in einer etwas abgeänderten Form:

Kann es bei den einzelligen Organismen tatsächlich zwei prinzipiell verschiedene und im Leben ein und desselben Tieres von Zeit zu Zeit abwechselnde Erscheinungsformen der Reizbarkeit geben, u. zw. in dem Sinne, dass das eine Mal nur zeitliche, ein anderes Mal dagegen nur örtliche Unterschiede in der Reizstärke den Anlass zu Bewegungsänderungen bilden? Mit Bezug auf den vorliegenden konkreten Fall lautet diese Frage: ist es überhaupt erdenklich, dass sich neben der Vielfalt der direkten, also einfachen, schnellen und sicheren Reaktionsmöglichkeiten, die dem *Paramecium* zur Verfügung stehen, noch eine weitere, sehr umständliche und hinsichtlich des Erfolges zufällige Methode der Reizbeantwortung ausgebildet hat? Eine Reaktionsweise also, wie sie — zumindest in der Deutung von JENNINGS — die typische Fluchtreaktion darstellt.

### Die Jenningssche Erklärung der Fluchtreaktion

Wie bekannt hat JENNINGS das ganze Schema dieser höchst charakteristischen negativen Bewegungsantwort kurz als einen durch verschiedene Bewegungen ausgeführten Auswahlprozess unter den verschiedenen Umgebungsbedingungen bezeichnet. Auf jede Reizung führt das Tier als Ganzes eine Bewegung nach der anderen aus, bis es schliesslich eine Fortbewegungsrichtung findet, bei deren Einschlagen es aus der ungünstigen Umgebung in neue, günstigere Bedingungen gelangt [2].

Diese indirekte Methode der Orientierung erschöpft sich aber keineswegs in blosser Wiederholung des vollen Bewegungskomplexes, wie man dies auf Grund der Lehr- und Handbücher, die die Darlegungen JENNINGS' oft allzu vereinfacht wiedergeben, denken könnte. Es muss nämlich betont werden, dass das *Paramecium* nach JENNINGS zur Unterstützung dieses »grosszügigen« Probierverfahrens noch über eine weitere, empfindlichere Methode verfügt, um sich durch Sondieren seiner nächsten Umgebung zu informieren. Dieser eigenartige Vorgang spielt sich in der zweiten Phase der Fluchtreaktion ab (s. die Bewegungsstellungen 3—5 in Abb. 1). Nach der Beendigung des Rückwärtsschwimmens soll nämlich eine Abschwenkung des Vorderendes von einer bestimmten, morphologisch differenzierten (ventralen) Seite weg erfolgen und dann

— infolge der Rotation des Körpers — die mehrmalige Wiederholung, sozusagen eine Verteilung dieser einseitigen Achsendrehung in die verschiedenen Richtungen des Raumes. Während dieser Kegelschwingung nimmt aber das Tier durch den Schlag seiner Peristomalzilen fortwährend »Proben« aus seiner Umgebung. Wenn dann die Probe aus einer bestimmten Richtung nichts mehr von der Reizursache enthält, beginnt der Infusor von neuem vorwärtszuschwimmen, u. zw. in diejenige Richtung, die seine Körperachse im Augenblick gerade einnimmt. Nur bei einem abermaligen Auftreffen auf den abschreckenden Reiz wiederholt sich der volle Bewegungskomplex der Fluchtreaktion. Dieses Spiel geht solange weiter, bis endlich die immer beim Stillstand eintretende Richtungsänderung aus dem Bereich des abträglichen Reizes hinausführt.

### Besprechung der Untersuchungen

Für den Prozess der Raumorientierung nach dem Prinzip des Versuchs und Irrtums bilden somit zwei Grundvorgänge im Verhalten die unerlässliche Voraussetzung: 1. eine Überproduktion der verschiedenen, aber nur morphologisch bestimmten Körperstellungen und 2. die Auswahl der richtigen unter diesen überproduzierten Achsstellungen durch Selektion. Es wäre dem Gesamtresultat dieser beiden Vorgänge zu verdanken, dass die relativ zur Reizquelle eigentlich ungerichtete Fluchtreaktion das Tier, wenngleich indirekt, schliesslich dennoch aus dem unangenehmen Reizgebiet wegführt.

Im Gegensatz zu dieser Vorstellung beweist nun schon eine einfache Beobachtung des Verhaltens, dass die JENNINSSCHE Fluchtreaktion meistens nicht den obigen Anforderungen der Versuchs- und Irrtumsmethode entspricht.

Der objektive und unvoreingenommene Beobachter wird nämlich vor allem feststellen, dass das Tier, wenn es überhaupt von dieser Methode der Reizbeantwortung Gebrauch macht, gewöhnlich schon mit Hilfe einer einzigen Fluchtreaktion erfolgreich den unangenehmen Reizwirkungen ausweicht.

Bei dem stark begrenzten Umfang der Wasserprobe, die gewöhnlich auf den Objektträger aufgebracht wird, ist es natürlich unvermeidlich, dass das Versuchstier — dessen natürlicher Zustand nicht die Ruhe, sondern die ständige Bewegung ist — immer wieder an dieselbe ausgedehnte Reizzone anstösst. In einem sog. physiologischen Falle, d. h. innerhalb eines eng begrenzten optimalen Reizbezirkes kann freilich von einem lange dauernden geradlinigen Vorrätschwimmen noch weniger die Rede sein. Die Bewegung von *Paramecium* wird sich hier notwendigerweise selbst dann bloss in einer ununterbrochenen Wiederholung der Bewegungsreaktionen erschöpfen, wenn jede einzelne Reaktion an und für sich in Beziehung zur Reizquelle richtig orientiert wäre. Sein Verhalten kann daher auch unter solchen Verhältnissen nicht als ein »Probierverfahren« gedeutet werden, etwa in dem Sinne, dass es ungerichtete stereotyp Bewegungen blind solange wiederholt, bis es zufällig die reizlose Richtung findet.

Will man nun das Ausbleiben der Wiederholung der vollen Fluchtreaktion dadurch erklären, dass die richtige Orientierung — im Sinne der oben geschilderten Auffassung von JENNINGS — schon innerhalb einer einzigen Fluchtreaktion, in deren zweiten Phase stattfindet, so wird man auf Schritt und Tritt wiederum nur auf Widersprüche stossen.

So kann man z. B. in der Grenzzone eines unangenehmen chemischen Reizes häufig die Erfahrung machen, dass nach Beendigung des Zurückfahrens die weitere Richtung der Fortbewegung keineswegs mit Hilfe einer Kegelschwingungsphase, also etwa durch Auswahl einer der zahlreichen sukzessiv aufgenommenen Körperstellungen bestimmt wird. Anstatt der Beschreibung eines Kegelmantels setzt nämlich das sich zurückziehende *Paramecium* in der Regel

nach einer einzigen, bestimmt gerichteten Abschwenkung des Vorderendes seinen Weg fort. Man kann also mit Recht fragen, wo in diesem Falle die Überproduktion der Körperstellungen bleibt.

Oder man nehme eine andere, ebenfalls häufige und vom Gesichtspunkt der Theorie nicht weniger unverständliche Erscheinung. Das Tier entfernt sich durch ein lange dauerndes Rückwärtsschwimmen weit von der Nähe des unangenehmen Reizes. Sodann verlangsamt es seine Bewegung, doch bevor es wiederum die gewöhnliche Bewegungsweise aufnehmen würde, schwingt es mit seinem Vorderende eine längere Zeit entlang eines (imaginären) Kegelmantels. Was für eine Bedeutung kommt nun in diesem Falle der Hervorbringung von verschieden gerichteten Körperstellungen zu und weshalb dauert es so lange, bis das Tier eine dieser Achsrichtungen auswählt, d. h. seine Normalbewegung wieder aufnimmt, wenn nach dem langen Rückzugsprozess bereits jede Körperstellung, also auch schon die erste, in ein reizloses Gebiet führt?

Genau der gleiche Einwand lässt sich aber auch bei einer ganz grossen Kategorie der Reizbewegungen vorbringen, wo von einer Erfüllung der von der Theorie angenommenen Voraussetzungen überhaupt nicht die Rede sein kann. Nach JENNINGS werden nämlich die mechanischen Hindernisse vom Tier ebenfalls mit Hilfe einer Fluchtreaktion vermieden. Bei einem mechanischen Reiz vermag aber — worauf übrigens auch JENNINGS selbst hinweist — die Strudeltätigkeit der Peristomalzilien offensichtlich keine Proben der Reizursache herbeizuschaffen. Trotzdem wird aber der Infusor — entsprechend der Theorie — dazu gezwungen, das Vorwärtschwimmen »blind« in mehrere Richtungen zu versuchen, bis er zufällig eine findet, in der er sich frei weiterbewegen kann. Dies müsste das Tier tatsächlich tun, wenn es sich im Sinne der Theorie verhielte. In Wirklichkeit geschieht demgegenüber, dass das *Paramecium* auch den festen Gegenständen mit einer einzigen bestimmten Richtungsänderung ausweicht. Es findet also kein Probieren, keine Wiederholung der vollen Fluchtreaktion statt, obwohl hier dieser Prozess tatsächlich einen Sinn haben würde, da ja die angebliche Prüfung der unmittelbaren Umgebung während der Kegelschwingungsphase im raschen Finden der reizlosen Richtung jetzt keine Rolle spielen kann.

Es lässt sich also bereits auf Grund der Beobachtung der lebenden Tiere feststellen, dass mehrere Züge ihres Verhaltens gegen die JENNINGSSCHE Deutung der Fluchtreaktion sprechen :

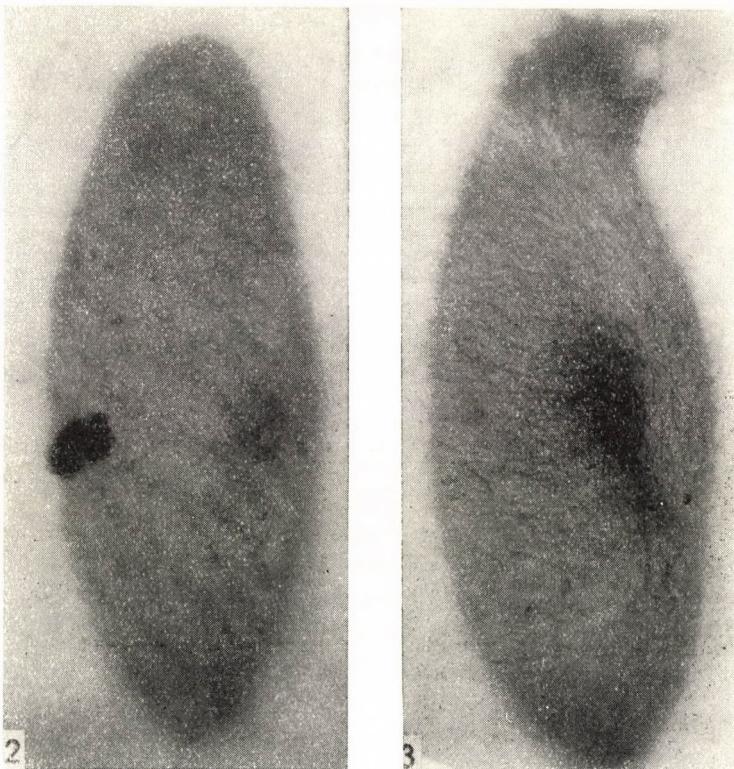
1. Die Fluchtreaktion kann in ihrer typischen Form (Zurücksschwimmen + Kegelschwingung) keineswegs als eine Methode des Versuchs und Irrtums betrachtet werden. Einerseits fehlen in manchen Fällen vom Gesichtspunkt der Theorie wesentliche Momente der Reaktion (z. B. die Überproduktion der Körperstellungen), wobei als Endergebnis trotzdem eine richtige Einstellung im Reizfeld zustande kommt ; in anderen Fällen sind wiederum während der vermeintlichen Orientierungsphase (Kegelschwingung) gar keine unangenehmen Reize in der nächsten Umgebung vorhanden (wenn z. B. schon das Rückwärtsschwimmen das Tier weit von der unangenehmen Umgebung wegführt), wobei aber trotzdem sämtliche Teilhandlungen der vollen Fluchtbewegung absolviert werden, so dass die Reaktion völlig den Voraussetzungen der Theorie entsprechend, aber »leer« abläuft.

Im Zusammenhang mit diesen Beobachtungen verdienen nun auch zwei weitere Ergebnisse der früheren Untersuchungen Aufmerksamkeit :

2. Die regelmässige Trichterdrehung, also die zweite Phase der JENNINGSCHEN Reaktion, schliesst sich keineswegs immer an eine Rückzugsbewegung an. Auch das gewöhnliche Vorwärtschwimmen und sogar die Rotation an Ort und Stelle kann in eine Kegelschwingung des Vorderendes übergehen. Die »Maschinenbedingungen« der Trichterbewegung können also einerseits nicht nur im Rahmen der Fluchtreaktion, als ein Teilprozess von ihr verwirklicht

werden, während sich andererseits die erste Phase, das Rückwärtsschwimmen, auch in einer anderen Bewegungsform, z. B. in einer Abschwenkung des Vorderendes nach einer beliebigen Körperseite oder in einer blosen Rotation fortsetzen kann [5].

3. Die sog. »abgekürzten Fluchtreaktionen« (Suchbewegungen) lassen sich auf momentane und lokale Funktionsänderungen der verschiedensten



*Abb. 2—3.* Der Zilienmechanismus des normalen Vorwärtsschwimmens als physiologischer Gleichgewichtszustand (Abb. 2). Infolge einer lokalen Reizung ausgelöstes Zurückprallen (Abb. 3). Sämtliche Zilien befinden sich in einer nach links vorne geneigten Bewegungsstellung. Die Reizungsstelle wird — ebenso wie in den folgenden 3 Abbildungen — durch die am vorderen Körperende herausgeschleuderten Trichozysten angezeigt. Entspricht der Bewegungsstellung 1 in Abb. 1

Zilienbezirke an der vorderen Körperhälfte zurückführen, so dass sie gar nichts mit der sog. Kegelschwingungsphase der Fluchtreaktion zu tun haben [8].

Vergleicht man diese aus verschiedenen Gebieten gewonnenen Erfahrungen, so scheint schon die Fragestellung selbst berechtigt, ob die Fluchtreaktion auch in jenen spärlichen Fällen, wo sie in ihrer typischen, zusammengesetzten Form in Erscheinung tritt und wo sie mit den Grundpostulaten der Versuchs-

und Irrtumstheorie scheinbar in vollem Einklang steht, tatsächlich eine indirekte, komplizierte Art der Reizbeantwortungen darstellt.

Untersucht man das Verhalten der an der Grenze einer chemischen Reizzone »typisch« reagierenden Tiere von diesem Gesichtspunkt aus, so sticht sofort ein auffallender, bisher allerdings sonderbarerweise nicht genügend beachteter Umstand in die Augen. Die erste Phase der Fluchtreaktion bildet zweifellos schon an sich eine abgeschlossene und sogar eine direkt gerichtete Bewegungsantwort: auf Wirkung des unangenehmen Reizes dreht das *Paramecium* die Schlagrichtung seiner Zilien um und schwimmt von der Reizquelle geradlinig weg. Würde dieser Rückzugsprozess in gewissen Fällen nicht mit einem Kegelschwingungsabschnitt gekoppelt sein, so wäre — man wird es ruhig behaupten können — gewiss nicht einmal die Spur des Gedankens aufgetaucht, dass es sich hier um die Verwirklichung einer indirekten, relativ zur Reizquelle ungerichteten Form der Reizbeantwortung handelt.

Die oben aufgeworfene Frage lässt sich nunmehr auch präziser wie folgt formulieren: gibt es wirklich keine überzeugendere und auch mit den beobachteten Begleiterscheinungen besser vereinbare Erklärung für die Verknüpfung des einfachen Rückwärtsschwimmens mit einer Kegelschwingungsphase, als es die JENNINGSsche Deutung ist? — Ein gangbarer methodischer Weg zum Finden einer richtigen Antwort scheint darin zu bestehen, dass man die Gesamthandlung der Fluchtreaktion in ihre einzelnen Phasen zerlegt und dann deren angenommenen Mechanismus Schritt für Schritt mit jenen Angaben vergleicht, zu denen man mit Hilfe des Schnellfixierungsverfahrens gelangen kann. Auf diese Weise wird es sich offensichtlich klarstellen lassen, ob die einzelnen Teilkomponenten jede für sich sowie auch in ihrer Gesamtheit den von der Theorie geforderten Grundpostulaten entsprechen oder nicht.

Es war schon früher gelungen [5], den Zilienmechanismus der ersten Reaktionsphase, also das charakteristische Wellenmuster der mit vollem Schwunge rückwärtsschwimmenden *Paramecien* (s. Bewegungsstellung 2 in Abb. 1) festzuhalten (Abb. 7). Es stellte sich heraus, dass die einzelnen Zilien auch an diesen Individuen ebenso streng koordiniert arbeiten wie während des normalen Vorwärtsschwimmens. Die Schlagebene ist aber hier um 90 Grad verdreht und der wirksame Schlag richtet sich nach rechts vorne. Währenddessen ziehen die Wellenkämme in steil linksgewundenen Schraubengängen um den Körper herum.

Kürzlich führte die Anwendung der gleichen Methode zur Erschliessung weiterer Einzelheiten bezüglich der ersten Reaktionsphase. Neben einer grossen Zahl von fixierten *Paramecien*, deren ganze Körperoberfläche von einem nach rechts vorne strudelnden Zilienwellensystem bedeckt war, wurden nämlich auch in beträchtlicher Menge Individuen beobachtet, an denen das für das Zurücksschwimmen charakteristische Wellenmuster bloss um den Hinterpol, u. zw. in einer Zone von fallweise unterschiedlicher Ausdehnung angetrof-

fen werden konnte (Abb. 4—6). Auf dem übrigen Gebiet der Körperoberfläche waren zur gleichen Zeit sämtliche Zilien in einer sich nach links vorne an die Anheftungsmembran anschmiegenden Lage erstarrt, also in einer Bewegungsstellung, die bereits früher [8] bei manchen Einstellbewegungen beobachtet wurde und die für sämtliche Zilien der während des Zurückprallens fixierten Tiere kennzeichnend ist (Abb. 3).



Abb. 4—6. Das Zurückprallen geht nach und nach in ein anhaltendes Zurückfahren über, da sich an der hinteren Körperhälfte allmählich ein System von Zilienwellen mit umgekehrter Schlagrichtung ausbildet

Allem Anschein nach kann also die äusserlich auf einem scheinbar einfachen Zilienmechanismus, auf einer gleichsinnigen Umstellung der Schlagrichtung sämtlicher Zilien beruhende Rückwärtsbewegung eigentlich bereits als ein zusammengesetzter Reizerfolg gedeutet werden. Die erste Antwort auf eine energische Reizung ist, dass sämtliche Zilien des Körpers nach einem einmaligen Ruderschlag nach vorne ihre Tätigkeit einstellen: des Tier stockt bzw. prallt zurück (Körperstellung 1 in Abb. 1). Diese Tätigkeitsänderung des Zilienkleides dauert bloss den Bruchteil einer Sekunde, um dann wieder in eine metachron geregelte, doch verkehrt strudelnde Schlagweise überzugehen, die für

das Rückwärtsschwimmen kennzeichnend ist. Es scheint, dass der einmalige Ruderschlag der Zilien in gewissen Fällen nicht in diese veränderte Koordinationsarbeit der lokomotorischen Elemente übergeht, so dass die Reizung anstatt mit einem anhaltenden Rückwärtsschwimmen nur mit einem kurzen Zurückprallen des Infusors um kaum eine Körperlänge beantwortet wird.



Abb. 7—9. Der Zilienmechanismus eines im vollen Schwung rückwärtsschwimmenden *Paramecium* (Abb. 7). Entspricht der Bewegungsstellung 2 in Abb. 1. Das Einsetzen der Gegenreaktion, die sich in der Trichterbewegung des vorderen Körperendes äussert (Abb. 8 und 9). An der hinteren Körperhälfte ist noch das Zilienwellenmuster des Rückwärtsschwimmens, an der vorderen hingegen schon das des normalen Vorwärtsschwimmens zu sehen

Aus dem ganzen Bewegungskomplex darf auch der Zilienmechanismus der Endphase (5—6 in Abb. 1) als bekannt angesehen werden, da er ja offenbar bereits mit der Wimperaktivität der Normalbewegung identisch ist.

In erster Linie soll aber jetzt hier untersucht werden, wie sich die Tätigkeit des Wimperkleides in der zweiten Phase, also während der zwischen das Rückwärtsschwimmen und das erneute Vorwärtsschwimmen eingeschalteten Kegelschwingung ändert (3—5 in Abb. 1). Dies wäre ja der kritische Reaktionsabschnitt, wegen dessen die Fluchtreaktion, die ursprünglich als eine klare negative Bewegungsantwort beginnt, schliesslich in Beziehung zur Reizquelle doch zu einer ungerichteten Probierbewegung wird.

Der auslösende Zilienmechanismus dieses Reaktionsabschnittes soll nach JENNINGS auf einer ziemlich einfachen Funktionsänderung der gewöhnlichen Wimperfähigkeit beruhen. Die einseitige Abschwenkung des Vorderendes aus der Bewegungsrichtung wäre demnach eigentlich eine Folge davon, dass nicht sämtliche Zilien nach der Beendigung des Rückwärtsschwimmens sofort zu der normalen Schlagweise zurückkehren. JENNINGS war nämlich der Meinung, dass die Zilien links vom Peristomfeld anstatt nach rechts hinten (wie die übrigen Körperzilien) zunächst nach links hinten schlagen; ihre rotatorische Komponente wirkt also derjenigen der rechten Seite entgegen. Infolgedessen verlangsamt sich einerseits die Rotation des Körpers um seine Längsachse, während sich andererseits auch die normale Abweichung nach der aboralen Seite vergrößert, da ja nunmehr nicht nur die rechts, sondern auch die links von der Peristomalmulde gelegenen Zilien gegen die Ventralseite hin schlagen. Die Folge dieses Wechsels in der Schlagtätigkeit der Zilien links vom Peristomfeld ist eine langsame Trichterbewegung des Körpers entlang eines Kegelmantels an Ort und Stelle, d. h. eine Erweiterung der auch beim ruhigen Schwimmen beschriebenen Schraubenlinie. Stellt sich nun die Tätigkeit sämtlicher Zilien des Körpers wieder in die normale Schlagrichtung ein, so beginnt die gewöhnliche Vorwärtsbewegung, u. zw. in eine Richtung, die von der momentanen Stellung der Körperachse während dieser Kegelschwingung bestimmt ist.

Um einen Einblick in den feineren Mechanismus dieser Reaktionsweise zu gewinnen, wurde mit Hilfe des Osmium-Hämatoxylinverfahrens eine grosse Menge von Präparaten von Tieren hergestellt, die zuvor durch künstliche Einwirkungen (Erhöhung der Temperatur, Behandlung mit Reizstoffen) zur Rückwärtsbewegung gezwungen wurden. Vergebens wurde jedoch die Fixierung auf die verschiedensten Zeitpunkte nach dem Einsetzen der Reaktion eingestellt, es konnte keine Spur des von JENNINGS vorausgesetzten oder eines ähnlichen Zilienmechanismus entdeckt werden. Denselben Schluss konnte bereits KOEHLER [3a] aus dem Verhalten von Teilstücken künstlich zerteilter Paramecien ziehen.

Betrachtet man nun das Verhalten eines *Paramecium* während der Absolvierung der Fluchtreaktion etwas genauer, so muss man zu der Folgerung gelangen, dass man auf einen solchen Befund eigentlich gar nicht rechnen darf. Es ist nämlich offenkundig, dass die von JENNINGS vorausgesetzte Zusammenarbeit der verschiedenen Zilienbezirke, d. h. der Schlag der links von der Peristomalmulde befindlichen Zilien nach links hinten, den übrigen Zilien unverändert nach rechts hinten und der Peristomalzilien in rein kaudaler Richtung höchstens bei vorwärtschwimmenden Tieren eine Trichterdrehung der Körperachse hervorzurufen vermag. Nun zeigen aber die Lebenduntersuchungen, dass das Kreisen des vorderen Körperendes mit einem immer zunehmenden Durchmesser nicht erst nach der Beendigung der ersten Reaktionsphase (s. Abb. 1), also an dem an einem Ort stillstehenden oder sich langsam vorwärtsbewegenden Tier einsetzt, sondern bereits während des Rückwärtsschwimmens. Mit dieser wichtigen Beobachtungstatsache hat jeder Versuch, der auf die Klärung des Zilienmechanismus der Kegelschwingungsphase abzielt, unbedingt zu rechnen.

Anstatt der gesuchten Bewegungsbilder erhielt man aus den Präparaten stets eine ganze Reihe verschiedener Phasen offensichtlich ein und desselben Reaktionsablaufes. Durch Seriierung dieser naturgetreu festgehaltenen Zilienwellenmuster ergibt sich für die Kegelmantelschwingung in der Tat eine ganz anders geartete und zugleich viel einfachere Erklärung.

Am hinteren Körperende dieser Tiere fällt das bereits wohlbekannte Zilienwellensystem der rückläufigen Bewegungsform ins Auge (Abb. 8—11). Um das apikale Körperende desselben Tieres findet sich aber — vom ersteren in der Regel durch eine wellenlose Zone getrennt — noch ein zweiter, ebenfalls metachron arbeitender Zilienbezirk. Die eingehende Analyse der Zilienwellen dieses Körperteils bestätigt nun in vollem Ausmass jene überraschende Tatsache, auf die man schon auf Grund des Verlaufes und der Anordnung der Wel-

len schliessen konnte: der wirksame Schlag der Einzelzilien richtet sich hier ausnahmslos nach rechts hinten. Man hat es also schon mit dem normalen Zilienmechanismus der unbehinderten, freien Vorwärtsbewegung zu tun, die noch vor Beendigung der Rückzugsbewegung von neuem in Aktion tritt. Es lässt sich auch feststellen, dass die Ausdehnung dieser beiden in entgegengesetzter

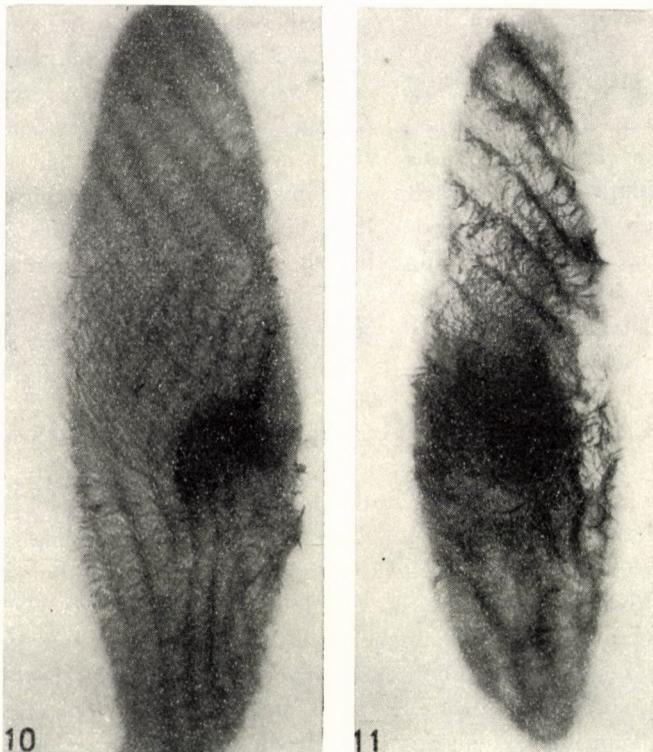


Abb. 10—11. Ein fortgeschrittenes Stadium der Gegenreaktion bzw. ihr Endstadium. In Abb. 11 ist das die Rückwärtsbewegung auslösende Wellensystem bereits in Auflösung begriffen. Die beiden Bilder entsprechen ungefähr den Bewegungsstellungen 3—5 in Abb. 1

Richtung arbeitenden Zilienbezirke an jedem Individuum fallweise verschieden ist.

Unter gleichzeitiger Berücksichtigung der mit dem Auge verfolgbaren Bewegungerscheinungen des Protistenkörpers wie auch der fixierten »Momentaufnahmen« lässt sich nun der Ablauf einer typischen Fluchtreaktion in ihren Einzelheiten wie folgt rekonstruieren:

Die Reaktion beginnt, wie zu sehen war, wahrscheinlich mit einem Zurückprallen (Abb. 3), das durch einen einmaligen Ruderschlag sämtlicher Zilien

ausgelöst wird und dem eine am Hinterende von neuem, doch in modifizierter Form einsetzende, am Körper nach links und etwas nach vorne zu strudelnde metachronische Zilienbewegung folgt. Diese steil linksgewundenen Zilienwellen breiten sich allmählich über die ganze Körperfläche aus (Abb. 4—7) und treiben das Tier — unter heftiger Rotation nach rechts — rückwärts. Die auf diese Weise zurückgelegte Strecke kann ganz kurz sein, wobei sie dann bloss das Ein- bis Zweifache der Körperlänge ausmacht. Bei stärkeren bzw. anhaltenden Reizwirkungen kann dagegen das Tier auch mehrere Sekunden lang mit dem Hinterende voran rückwärtsschwimmen. Die Rückkehr zur normalen Bewegungsweise beginnt damit, dass zuerst um das Vorderende, dann in einer sich immer mehr nach hinten ringsherum ausdehnenden Zone (Abb. 8—9) stets mehr und mehr Zilien wiederum die gewöhnliche (nach rechts hinten gerichtete) Schlagtätigkeit aufnehmen, während die Zilien der hinteren Körperhälfte das Tier weiterhin von der Reizquelle zu entfernen bestrebt sind. Im gleichen Ausmass, wie der vordere Bezirk der kaudalwärts schlagenden Zilien grösser wird, zieht sich auch Schritt für Schritt das in entgegengesetzter Richtung strudelnde Ziliensystem der hinteren Körperhälfte zusammen. Die Geschwindigkeit der Rückwärtsbewegung wird also infolgedessen immer geringer und der vom vorderen Körperpol beschriebene Kreisbogen erweitert sich immer mehr und mehr. Bei einem bestimmten Ausdehnungsverhältnis zwischen dem apikal- und kaudalwärts schlagenden Zilienabschnitt (Abb. 10) bleibt das Tier für einige Momente an Ort und Stelle und führt dabei regelmässige Trichterdrehungen aus. Schliesslich erhält der kaudalwärts schlagende Zilienabschnitt Übergewicht, das Wellensystem der Rückbewegung verschwimmt langsam (Abb. 11) und der Zellkörper schwimmt mit allmählich gesteigerter Geschwindigkeit wieder vorwärts. Es gehört demnach zur Charakteristik dieses Umschaltungsmechanismus, dass das Tier übergangsweise von der einen Gruppe der lokomotorischen Organellen nach vorne, von der anderen aber gleichzeitig nach hinten gezogen wird. Man hat es also mit einer Erscheinung zu tun, wie sie an Tieren, die unter dem Einfluss des galvanischen Stromes stehen, durch Umkehrung der Schlagrichtung der kathodischen Zilien jederzeit künstlich hervorgerufen werden kann. In unserem Falle wandert jedoch die Grenzlinie zwischen den gegeneinander arbeitenden Zilienbezirken jedesmal sukzessiv die ganze Körperoberfläche entlang und ist dabei nicht einmal scharf. Anstatt von einer Grenzlinie spricht man also besser von einer ringförmigen Grenzzone, innerhalb der der strenge Rhythmus der Zilientätigkeit für eine kürzere Zeit unterbrochen wird. Es hat geradezu den Anschein, als ob die in dieser ringförmigen Zone befindlichen Zilien vorübergehend in Ruhe verharrten, u. zw. meistens in der Endphase eines energischen Schlages nach vorne. Jedenfalls schmiegen sich die Zilien hier meistens in dieser Richtung geneigt an die Körperoberfläche an. Es ist also wahrscheinlich, dass vor der Rückkehr zur normalen Schlagrichtung gleichfalls ein Aufhören der Koordination bzw. ein vorübergehender Stillstand

der Zilientätigkeit eintritt, ähnlich wie beim Auftreten des Wellenmusters mit umgekehrter Strudelrichtung am Anfang der Reaktion.

Die Erklärung für die während des Zurückfahrens häufig zu beobachtende Trichterbewegung ergibt sich aus den obigen Darlegungen nunmehr sozusagen von selbst. Die sog. Kegelschwingungsphase beruht demnach nicht auf der Funktionsänderung einer topographisch erfassbaren Gruppe von Körperzilien, die primär eine einseitige (aborale) Schwenkung der Körperachse bzw. — infolge der gleichzeitigen Achsdrehung des Körpers — eine erweiterte Trichterbewegung des vorderen Körperendes zur Folge hat. Hier handelt es sich ganz einfach darum, dass sich eine vom Vorderpol ausgehende allmähliche und universelle Umstellung der bis dahin gleichmässig über den Körper verteilten und gleichgerichteten Triebkräfte (richtiger, die sukzessive Wiederherstellung der gewöhnlichen Schlagrichtung) vollzieht. Dieser Vorgang kann sich aber, wenn man auch die gleichzeitige Rotation des Zellkörpers in Betracht zieht, äusserlich offensichtlich bloss in einer kreisenden Bewegung des vorderen Körperendes mit einem allmählich zunehmenden Durchmesser zum Ausdruck kommen.

Diese vorübergehende Asymmetrie der lokomotorischen Triebkräfte, die sich somit aus der polar einsetzenden Umstellung der Schlagrichtung der Wimpern ergibt, wird durch zwei weitere Umstände noch mehr gesteigert. Einerseits gelangt die Differenz, die hinsichtlich der Grösse und der Richtung der Triebkräfte zwischen dem Peristomfeld und der Dorsalseite besteht [7], in den Anfangsstadien des Rückwärtsschwimmens offensichtlich besser zur Geltung als während der normalen Bewegung, wo der gesamte Zilienbesatz in Anspruch genommen ist. Andererseits lässt sich aus den stabilisierten Bewegungsbildern auch ablesen, dass sich der Bezirk der zu ihrer normalen Tätigkeitsweise zurückkehrenden Zilien in der Regel rundherum am Körper nicht in jeder Richtung mit der gleichen Geschwindigkeit nach hinten ausbreitet.

Wenn nun hier die Folge jener Geschehnisse, die sich im Laufe der Absolvierung einer vollen Fluchtreaktion äusserlich am Zilienkleid abspielen, tatsächlich richtig rekonstruiert wurde, dann ist man offenbar auch in den Besitz von wertvollen Anhaltspunkten für das Verständnis der sich gleichzeitig damit abspielenden protoplasmatischen Prozesse gelangt. Der Gedanke liegt nämlich auf der Hand, dass es sich im gegebenen Fall um einen sich auf den ganzen Körper plötzlich ausbreitenden allgemeinen Erregungszustand handelt. Diese durch einen momentanen und lokalen Reiz ausgelöste physiologische Zustandsänderung äussert sich zuerst in der Unterdrückung der metachron geregelten Zilienarbeit (Zurückprallen des Körpers) und geht dann in einer Dauererregung der Zelle über, die schubweise in Form von einzelnen Erregungswellen zur Entladung kommt. Diese kontinuierliche Reihe von Erregungstössen unterscheidet sich in mehrerer Hinsicht (Intensität, Rhythmis, physiologische Wirkung) von den die gewöhnliche Zilienbewegung primär regulierenden Koordinationsimpulsen (Abb. 2). Auf ihren Einfluss entwickelt sich stufenweise — vom hinteren Körperende beginnend — das Zilienwellensystem des rechtsschraubigen Rückwärtsschwimmens. Nach einer kürzeren oder längeren Zeit erlischt dieser Erregungszustand ebenfalls allmählich, aber jetzt vom Vorderpol ausgehend,

so dass am vorderen Körperteil die Wiedereinstellung des für das unbehinderte Vorwärtschwimmen charakteristischen Wellensystems in einem immer grösseren Gebiet möglich wird (Kegelschwingung).

Die Erklärung der Widersprüche, die im Zusammenhang mit der Fluchtreaktion als einer Orientierungsmethode nach dem Prinzip des Versuchs und Irrtums auf Schritt und Tritt auftauchen, liegt nunmehr auf der Hand. Der Begriff der Fluchtreaktion ist offenbar nichts anderes als eine künstliche Konstruktion. Er wurde wohl so geboren, dass JENNINGS — und unter dem suggestiven Einfluss seines Deutungsvorschlags auch die Mehrzahl der Forscher — zwei tatsächlich beobachtbare Bewegungsformen, das Zurückfahren und das Kegelschwingen, willkürlich miteinander verknüpfte und als Teilkomponenten einer einzigen komplexen Bewegungsreaktion hinstellte. Da nun die Kegelschwingung naturgemäss damit verbunden ist, dass sich das Vorderende des Protistenkörpers sukzessiv in die verschiedenen Richtungen des Raumes wendet, dürfte sich offenbar aus dieser Beobachtung jene Annahme ergeben haben, die die Aufmerksamkeit auf den zweiten Teil der Fluchtreaktion gelenkt hatte. Man glaubte nun die Bedeutung dieser Trichterdrehung darin erblicken zu können, dass sie die Produktion neuer Körperstellungen sowie die Überprüfung der unmittelbaren Umgebung bezüglich etwaig vorhandener Reize bezeichnete.

Die Plausibilität und besonders die Grosszügigkeit dieser sog. »Versuchs- und Irrtumstheorie«, mit der sozusagen sämtliche Bewegungsreaktionen nicht nur des *Paramecium*, sondern im allgemeinen aller Einzeller auf dasselbe Prinzip zurückgeführt werden konnten, dürfte der Grund gewesen sein, dass man eine ganze Reihe von Erscheinungen, die für die Theorie keineswegs günstig waren, einfach übersah. So dürfte u. a. auch deshalb die Tatsache unberücksichtigt geblieben sein, dass der Ablauf der Fluchtreaktion in den meisten Fällen nicht den Anforderungen der Theorie entsprach. So einfache und an sich schon eine beendete Bewegungsreaktion darstellende Reizbeantwortungen wiederum, wie sie bereits früher [8] in verschiedenen Modifikationen festgestellt wurden, qualifizierte man als abgekürzte Varianten der Kegelschwingungsphase, so dass sie alle ebenfalls dem übertriebenen Schematisierungsbestreben zum Opfer fielen.

Das Ergebnis der Verquickung von beobachteter Wahrheit mit ungenügend begründeter Annahme war, dass in dem Bewegungskomplex der Reaktion die Tatsache und Bedeutung des Rückwärtsschwimmens gegenüber der angenommenen Rolle der Kegelschwingung völlig in den Hintergrund gedrängt wurde. Demgegenüber ist festzuhalten, dass die typische Fluchtreaktion als Orientierungsbewegung in Wirklichkeit keine zweite Phase besitzt. Das einzige wesentliche Moment in der Reaktion ist das Rückwärtsschwimmen, mit dessen Hilfe sich das Tier aus der unangenehmen Umgebung entfernt. Die Einstellung der Körperachse in bestimmter Richtung in einem Reizfeld ist schon mit diesem Prozess allein beendet. Der sich dem Rückwärtsfahren an-

schliessende Bewegungsabschnitt, die Kegelschwingung, hat mit der Orientierung bereits gar nichts zu tun. Sie ist nichts anderes als die äussere Erscheinungsform der sog. »Rückregulation« bzw. der »Gegenreaktion«, ein Vorgang, mit dem notwendigerweise jede Art der Reizbewegungen früher oder später allmählich wieder in den Zustand des physiologischen Gleichgewichts, d. h. in die normale Fortbewegungsweise zurückgeführt wird. Ihr Auftreten ist also



Abb. 12. Von *Didinium* im unteren Körperdrittel angegriffenes *Paramecium* während der Ausführung des Rückwärtsschwimmens, genauer im Moment der Rückregulation

gerade das Zeichen dafür, dass der Erregungszustand des Körpers schon abklingt und dass die normale Zilientätigkeit wieder aufgenommen wurde.

Als Ergänzung zu den geschilderten Untersuchungen ist hier noch nachdrücklich, u. zw. im Zusammenhang mit der Abb. 12 auf eine merkwürdige Erscheinung hinzuweisen.

Das auf der Mikrophotographie sichtbare *Paramecium* wurde im unteren Drittel seines Körpers von den Schlundtrichozysten eines *Didinium* angegriffen. Hinsichtlich der Art und des Ortes der Reizung hat man es also mit einem Fall zu tun, dessen genauem Analogon man im Laufe der bisherigen Untersuchungen [8] bereits mehrere Male begegnet war. Nach den bisherigen Erfahrungen äusserte sich jedoch die Reaktion in solchen Fällen bloss in einer grösseren oder kleineren Veränderung des ursprünglichen Wellenmusters des betroffenen Zilienbezirkes. Im vorliegenden Falle löste nun die Reizung das Rückwärtsschwimmen des Zellkörpers aus, bzw. die Aufnahme hält ein fortgeschritteneres Stadium der Rückregulation fest. Es besteht keinerlei Grund zur Annahme, dass der Wirkungsgrad des Reizes jetzt grösser war als sonst. Wenn aber auf dieselbe Reizwirkung fallweise auch eine andere, in unserem Fall die maximale Reaktion eintreten kann, so weist dieser Umstand offensichtlich darauf hin, dass der jeweilige Charakter der Reaktion von dem momentanen physiologischen Zustand des Infusors stark beeinflusst wird (vgl. [8], p. 312).

### Auswertung der Ergebnisse in bezug auf das Orientierungsproblem

Leider sind beim Auswerten der fixierten »Momentaufnahmen« sowie bei deren Identifizierung mit den tatsächlich beobachteten Bewegungsformen gewisse Fehlerquellen gegenwärtig noch fast unvermeidbar. Es steht gleichfalls fest, dass auch zur Klärung der verschiedensten Einzelfragen noch weitere experimentelle Arbeiten dringend notwendig sind. Die Ergebnisse der vorherigen [8] und der vorliegenden Untersuchungen fügen sich jedenfalls so lückenlos aneinander, dass dies kaum als ein blosser Zufall gedeutet werden kann. Aus den bisher gesammelten Kenntnissen ist jedoch nur ein einziger Schluss möglich : *die auf der Fluchtreaktion als auf einer indirekten Methode der Reizbeantwortung beruhende sog. Versuchs- und Irrtumstheorie der Raumorientierung ist unhaltbar*. Mit ihrer Hilfe lässt sich nicht nur die Geo- und Galvanotaxis, sondern auch das schnelle und sichere Zurechtfinden des *Paramecium* zwischen den übrigen Einflüssen seiner natürlichen Umgebung nicht erklären.

JENNINGS ging bei der Aufstellung des Prinzips von Versuch und Irrtum wie bekannt von Infusorien aus, und auch heute noch wird immer wieder gerade das Verhalten unseres Versuchstieres in einem chemischen bzw. thermischen Reizfelde als Schulbeispiel für die phobische Reaktionsweise angeführt. Die erste Frage, die sich nach Ziehung der obigen Folgerung notwendigerweise ergibt, lautet also : wieweit dürfen die geschilderten Erfahrungen verallgemeinert werden? Auf Grund der ersten orientierenden Untersuchungen lässt sich in dieser Beziehung vorläufig nur soviel sagen, dass bei einigen Vertretern der verschiedensten Protozoengruppen ähnliche Verhältnisse wie bei *Paramecium* vorliegen. Die Zahl der bisher analysierten Fälle ist jedoch viel zu klein, um diese wichtige Frage endgültig entscheiden zu können. Daneben hat man auch zahlreiche Umstände zu berücksichtigen, die eine einheitliche Beurteilung der erhaltenen Resultate erschweren.

Unter diesen ist vor allem auf den Umstand hinzuweisen, dass die jeweilige Art und Vollkommenheit der Raumorientierung offenbar auch weitgehend vom Aktionsvermögen des betreffenden Organismus, von der Motilität seiner lokomotorischen Organellen abhängt. So z. B. besteht die Beantwortung der Reize bei den Hypotrichen tatsächlich in der mechanischen Wiederholung der gleichen stereotypen Bewegungsfolge, die von JENNINGS bei allen Einzellern angenommen wird : Zurückprallen, Abschwenkung des Vorderendes nach einer morphologisch bestimmten Körperseite und dann erneute Vorwärtsbewegung in dem eingeschlagenen Winkel ([8], Abb. 1). Die Hypotrichen sind aber keine pelagischen Wesen, sondern die Organisation ihres Körpers ist dem Kriechen angepasst. Infolge dieser besonderen Lebensweise hat sich auch die Art ihrer Ortsveränderung radikal vereinfacht und auch ihre motorische Fähigkeit ist wesentlich dürftiger als z. B. die von *Paramecium*. An Stelle der in jede beliebige Schlagrichtung einstellbaren *Paramecium*-Zilien haben sich Zirren ausgebildet, die zum Schreiten dienen. Diese Bewegungsorganellen können aber den wirksamen Schlag nur in zwei Richtungen nach vorne und nach hinten, ausführen. Ein hypotricher Infusor würde also tatsächlich vergebens die räumliche Lage der Reizquelle perzipieren können, wenn sich die ausgelöste Reaktion nur in einer einzigen Bewegungsänderung, im Zurückfahren zu äussern vermag. Also blos in einem Zurückfahren und nicht in einer komplexen »Fluchtreaktion«, weil sich die eigentliche Bewegungsantwort den Anzeichen nach ausschliesslich in der Umkehrung der Bewegungsrichtung erschöpft. Die Winkelabweichung selbst ist auch hier bereits die äussere Erscheinungsform der Rückregulation, also die Folge der am vorderen Körperende einsetzenden Wiederaufnahme der normalen

Lokomotionsweise und im Zusammenhang damit der Tätigkeitsaufnahme der asymmetrisch verlaufenden aboralen Membranellenzone. Es liegt auf der Hand, dass es nicht zulässig ist, den allgemeinen Entwicklungsgrad der Reizbarkeit, sowie den Charakter der Bewegungsreaktionen auf Grund des Verhaltens so einseitig spezialisierter Einzeller zu beurteilen.

Wenn auch im heutigen Stadium der Forschungen noch nicht daran zu denken ist, gewisse allgemeingültige Gesetzmässigkeiten der Orientierungsbewegungen für sämtliche einzellige Lebewesen aufzustellen, so wird man trotzdem nicht umhin können, zumindest einen Vergleich der erhaltenen Ergebnisse mit den bisherigen, auf das *Paramecium* bezüglichen Kenntnissen zu versuchen.

Laut unserer Feststellung beruht die Beantwortung der repulsiv wirkenden mechanischen, chemischen und thermischen Reize nicht auf einer Probiermethode sondern auf verschiedenen Richtungsbewegungen des Tieres. Es ist daher vor allem klarzustellen, auf Grund welcher Prinzipien hier der richtig orientierte Zustand eigentlich erreicht wird und was für ein Zusammenhang zwischen dem Rückwärtsfahren und den bereits früher beobachteten kurzen Einstellbewegungen [8] besteht.

Gleichzeitig darf man aber auch nicht vergessen, dass auch weitere Reizbewegungen von *Paramecium* bekannt sind, die sich hinsichtlich des Reizanlasses und ihres Ablaufes von den obigen grundlegend zu unterscheiden scheinen. Im weiteren ist also auch die Frage zu prüfen, wie sich die beiden grossen Kategorien der Orientierungsbewegungen (also einerseits die durch mechanische, chemische und thermische Reize und andererseits die durch die Schwerkraft und den galvanischen Strom ausgelösten Reizbewegungen) zueinander verhalten. Lassen sich diese aus zwei verschiedenen Reizgebieten gewonnenen Kenntnisse vielleicht dennoch auf eine gemeinsame Formel bringen?

Zur Klarlegung dieser Fragen soll im folgenden die bei der Verhaltensforschung bisher wohlbewährte Arbeitshypothese herangezogen werden. Vor allem soll also versucht werden zu entscheiden, in welche der KÜHNSchen Taxiskategorien sich die verschiedenen Reizbewegungen von *Paramecium* nach ihrem physiologischen Mechanismus einordnen lassen.

Im Bereich der ersten drei Reizarten wurden vom Aktionssystem von *Paramecium* bisher die einfachen Vermeidungsreaktionen, das Bogenschwimmen mit und ohne Rotation, die Dorsalabwendung, die Abwendungen des Vorderendes nach beliebigen Körperseiten und schliesslich das Zurückprallen näher untersucht [8]. Als Ergebnis der vorliegenden Untersuchungen kommt noch das an Stelle der Fluchtreaktion erhaltene Rückwärtsschwimmen in einer Rechtsschraube hinzu. Obgleich das Aktionsvermögen von *Paramecium* mit den aufgezählten Reaktionsweisen noch keineswegs erschöpft ist, können gemäss den früheren Untersuchungen [5, 8] gewisse Gesetzmässigkeiten schon aus dem Vergleich der bisher analysierten Reizbewegungen abgeleitet werden.

So wurde im allgemeinen festgestellt, dass die betreffenden Reaktionen einerseits auf der momentanen lokalen Beeinflussung von grösseren oder kleine-

ren Zilienbezirken oder andererseits auf der gleichsinnigen Umstellung der Schlagtätigkeit sämtlicher Zilien beruhen.

Den durch partielle Beeinflussung der Ziliatur ausgelösten Reaktionen kann offenbar nur ein verhältnismässig einfacher physiologischer Vorgang zugrunde liegen. Ebendeshalb wurde im Falle der einfachen Vermeidungsreaktionen sowie beim Bogenschwimmen unter Rotation früher auf den Erfolgsorganellen selbst angreifende, direkt funktionsändernde Reize (im Sinne von ALVERDES [1]) angenommen. Der schwache Punkt dieses Erklärungsversuches besteht aber darin, dass die veränderte Zilientätigkeit auch innerhalb des beeinflussten Bezirkes metachronisch koordiniert bleibt ([8], Abb. 5—9). Verschiedene Umstände sprechen dafür, dass man es im Falle dieser beiden Reizbewegungen mit einer Manifestation der Wirkung von unterschwelligen Reizen zu tun hat, in dem Sinne, dass die auftretende Erregung und auch die ausgelöste Reaktion selber auf die betroffene Oberfläche beschränkt bleibt. Dies würde somit bedeuten, dass selbst bei sehr niederen Reizstärken eine wahrnehmbare Reaktion auftreten kann, aber nur ein Teil dessen, was das Tier überhaupt auszuführen imstande ist.

Es sind natürlich weit mehr Anhaltspunkte und insbesondere eine exakte quantitative Methode notwendig, wenn man in diesem interessanten Gebiet der Reizphysiologie über das Stadium der mehr oder weniger begründeten Vermutungen hinausgelangen will. Was aber auch immer die physiologische Basis dieser kurzen Reaktionen sein mag, so können schon jetzt füglich zwei Behauptungen aufgestellt werden. 1. Die obigen, lokal begrenzten und im allgemeinen auf der partiellen Beeinflussung der normalen Tätigkeit des Zilienkleides beruhenden Reaktionen sind keine Teilhandlungen der JENNINGSschen Fluchtbewegung bzw. deren Kegelschwingungsphase, sondern nur des Rückwärtsschwimmens als eines bereits an und für sich beendigten Reizerfolges. 2. Die Vorstellung, wonach der Reiz infolge seiner beschleunigenden Wirkung lenkt und regelt, drückt selbst im Falle dieser allereinfachsten Reizbewegungen kaum das Verhältnis zwischen Reizanlass und Reizerfolg getreulich aus. Die diesbezüglichen fixierten Momentaufnahmen weisen nämlich eindeutig darauf hin, dass sich infolge der Reizung nicht nur der Schlageffekt der Zilien, sondern innerhalb weiter Grenzen auch die Richtung des wirksamen Schlages ändern kann.

Dieser elementare Modus der Reizbeantwortungen arbeitet — wie die Lebendbeobachtung lehrt — überaus empfindlich und genau. Es genügt schon eine minimale thermische oder chemische Inhomogenität des Mediums, die leichteste Berührung oder der geringste Stoss, eine durch einen anderen Infusor hervorgerufene leichte Wasserströmung usw., um eine äusserlich wahrnehmbare Veränderung im Verhalten des Tieres hervorzurufen. Das normale Koordinationsmuster des Zilienkleides wird sogleich auf einem begrenzten Körperflächenbezirk für einen Augenblick gestört, die Stellung der Körperachse verändert und die bis dahin beschriebene linksgewundene Bewegungsbahn vorübergehend deformiert. Die ökologische Bedeutung solcher auf eine äusserst niedrige Auslösungsschwelle eingestellter Reaktionsmechanismen ist offensichtlich. Das frühe Dazwischenreten dieser Reaktionen ermöglicht das Tier, vor einer Schädigung zu fliehen, noch bevor es in die gefährliche Konzentration einer Reizzone eingedrungen ist. In natürlicher Umgebung beruht das Orientierungsvermögen in erster Linie auf diesen einfachen

aber überaus empfindlichen physiologischen Mechanismen. Es lässt sich offenbar auch damit erklären, dass die Paramecien unter natürlichen Verhältnissen verhältnismässig selten plötzlichen und energischen Reizwirkungen ausgesetzt sind, die die normale Zilientätigkeit anhaltend und radikal umstellen.

Bei Steigerung der Reizintensität tritt ein anderer Typus der Bewegungsreaktionen auf, der aber vom Gesichtspunkt der grundlegenden physiologischen Prozesse eng an die vorherige Kategorie anknüpft. Für die hierher gehörigen Reizbewegungen ist es charakteristisch, dass sich die lokal entstandene Erregung allmählich auch auf andere Zellabschnitte ausbreitet. Die an den in Reizferne gelegenen Zilien bewirkte Funktionsänderung ist aber in der Regel eine andere, meistens in dem Sinne, dass der Schlageffekt hier vermindert wird. Es hat den Anschein, als ob die Energie der sich fortpflanzenden Erregungswellen mit wachsender Entfernung vom Reizort Schritt für Schritt aufgezehrt würde. Schliesslich erlischt der ganze Erregungsprozess sowie auch die einsetzende Reaktion, noch bevor sie sich auf der ganzen Körperoberfläche mit voller Intensität entfalten können. Aus gewissen Charakterzügen des Verhaltens sowie aus den entsprechenden Zilienwellenmustern erhält man dabei oft den Eindruck, dass ein einfacher lokaler Reiz bzw. die erweckte Erregung in einer in Intensität und Rhythmus veränderten Form gleichzeitig und sogar richtig verteilt zu verschiedenen Körpergegenden weitergeleitet wird.

Um diesen Ausführungen eine konkrete Unterlage zu geben, sei auf die Mikrophotogramme der vorhergehenden Arbeit verwiesen, auf denen je eine Phase der Abschwenkung des Vorderendes nach beliebigen Körperseiten festgehalten ist ([8] Abb. 16—21). An jeweils verschiedenen Oberflächenbezirken dieser Exemplare, u. zw. immer an der vorderen Körperhälfte, ist ein System von gut ausgeprägten, kurzen Wellenkämmen zu sehen. Der Wellenverlauf, d. h. die Schlagrichtung der Zilien ist fallweise verschieden. Unter dem Einfluss der Reizung hat sich also die metachronisch geregelte Arbeit der Zilien in einem scharf umgrenzten Gebiet der Körperoberfläche bezüglich der Strudelrichtung und des Schlageffekts bloss geändert bzw. verstärkt. An den übrigen Körpergegenden derselben Individuen ist dagegen die Koordination der Zilientätigkeit mehr oder minder gestört bzw. gänzlich aufgehoben, was sich aus den verschwommenen Konturen der Zilienwellen bzw. aus ihrem völligen Fehlen unschwer ableiten lässt. Das Zilienkleid gibt also in den verschiedenen Körperregionen auf die gleiche lokale Einwirkung eine unterschiedliche Antwort. Dieser aus den fixierten Präparaten gezogenen Folgerung entspricht übrigens durchaus das Verhalten der lebenden Tiere: die Seitwärtsdrehung des Vorderendes wird gewöhnlich von einer vorübergehenden Verlangsamung oder völligen Aufhebung des Fortschreitens bzw. der Achsendrehung des Körpers unterstützt.

Das Bogenschwimmen ohne Rotation kann aber ebenfalls nicht auf eine Beeinflussung des vom Reiz unmittelbar betroffenen Wimperbezirkes, d. h. auf eine einfache lokalisierte Reaktion zurückgeführt werden, sondern es kommt

offenkundig durch eine harmonische Zusammenarbeit des gesamten Ziliensatzes zustande. Aus den diesbezüglichen Bildern zu schliessen ([8], Abb. 10—12), wird die Bewegung der einzelnen Ziliens je nach dem Angriffspunkt des Reizes bezüglich der zeitlichen Aufeinanderfolge sowie der Richtung und Wirksamkeit des Schlages auf der ganzen Körperfläche nach einem fallweise anderen Plan umgestellt. Besonders hervorzuheben ist hierbei der Umstand, dass mit der Veränderung der Zilientätigkeit der einen Körperseite wieder eine Störung der Koordination der entgegengesetzt gelegenen Ziliens und sogar das vollständige Aufhören ihrer Schlagtätigkeit einhergeht.

Ebenfalls späteren Untersuchungen ist die Entscheidung der Frage vorbehalten, ob die jeweils fein abgestufte Zusammenarbeit sämtlicher lokomotorischer Organellen und vornehmlich die asymmetrische Kooperation verschiedener Ziliensbezirke bloss auf Grund einer hinfachen dekrementiellen Erregungsleitung schon hinreichend erklärbar ist oder aber ob man eier bereits mit der Mitbeteiligung gewisser innerer Umsetzungsvorgänge rechnen muss.

Es unterliegt keinem Zweifel, dass man im Ablauf der bisher besprochenen Reizbewegungen vergebens die charakteristischen Eigenschaften der phobischen Reaktionen suchen wird. Ihr Auslösungsmechanismus beruht je nach der Angriffsrichtung des Reizes auf der Tätigkeitsänderung von jeweils verschiedenen Ziliensbezirken, so dass die ruckweise Änderung der Bewegungsrichtung keineswegs nur nach einer morphologisch vorbestimmten, sondern nach jeder beliebigen Körperseite hin erfolgen kann. Wenn aber die Einstellung in einem Reizfeld tatsächlich von lokalen Differenzen in der Reizung verschiedener Körperteile bedingt ist, dann wird auch jene frühere Beobachtung verständlich, dass in dem Ablauf dieser vier Reaktionen auch das dritte Kriterium des phobischen Verhaltens (vgl. [8] p. 296) fehlt, nämlich die Annahme, dass der richtig orientierte Zustand nur fallweise, nach einem langwierigen Herumprobieren erreicht werden kann.

Von den besprochenen sieben Reizwirkungen sind es eigentlich nur drei, nämlich die Dorsalwendung des Vorderendes, das durch den einmaligen Ruderschlag sämtlicher Ziliens bewirkte Zurückprallen und schliesslich das anhaltende Rückwärtsschwimmen, die das Tier, zumindest in bezug auf den auslösenden Ziliensmechanismus, von der unangenehmen Umgebung noch am meisten in der Art von phobischen Reaktionen entfernen.

Weiter oben wurde bereits gezeigt, dass die zwei letzteren Reizbewegungen auch miteinander verknüpft auftreten. Es ist leicht möglich, dass eigentlich alle diese drei Reaktionen den Phasen eines einheitlichen Bewegungskomplexes entsprechen, die ersten zwei können aber bei entsprechend verminderter Reizstärke auch gesondert, als selbständige Reizbewegungen zur Anwendung kommen. Der Ziliensmechanismus dieser Reaktionsarten lässt sich unter gemeinsamer Berücksichtigung der fixierten Momentaufnahmen und der Lebenduntersuchungen wie folgt rekonstruieren.

Nach einer Reizwirkung, die einen gewissen Intensitätsgrad erreicht, hört die normale Koordination der Ziliensbewegung auf der Körperoberfläche für eine kurze Zeit auf, wobei sämtliche Körperziliens einen einzigen, gegen das Vorderende hin gerichteten energischen Ruderschlag ausführen. Als Ergebnis dieser gleichsinnigen Funktionsänderung der Körperbewimperung prallt also der Infusor von der Reizzone zurück, während er sich gleichzeitig infolge der unveränderten Strudeltätigkeit der Peristomalziliens in aboraler Richtung abwendet (Dorsalwendung).

Bei einer etwas stärkeren Reizwirkung dehnt sich die sich auf die Körperzilien beschränkende obige Funktionsänderung auch auf den Bezirk der Peristomalzilien aus, so dass die Körperachse während des Zurückprallens vollständig mit der Bewegungsrichtung zusammenfällt.

Schliesslich wird ein kurzer, aber sehr energetischer Einzeleriz in einen lang andauernden Erregungszustand des ganzen Zellkörpers umgesetzt. Dieser Prozess äussert sich darin, dass die Ziliatur nach der Ausführung des Zurückprallens nicht sofort zur gewöhnlichen Schlagweise zurückkehrt, sondern dass — wie oben bereits ausführlich geschildert wurde — zuerst noch das besondere Wellensystem des Rückwärtsschwimmens auftritt, dem eine Serie von periodisch aufeinanderfolgenden Erregungsimpulsen zugrunde liegt.

Ob sich nun diese Reizbewegungen im Sinne der obigen Darlegungen aneinander knüpfen oder nicht, so scheint vom Gesichtspunkt des Orientierungsproblems vor allem jener Umstand massgebend zu sein, dass in allen drei Fällen der Reiz eine stereotype Reaktion auslöst: die Tätigkeit des gesamten Ziliensatzes stellt sich nach einem festen Schema um und der Einzeller wird gezwungen, seine Bewegung in einer morphologisch vorbestimmten Richtung zu verändern. Des weiteren ist es auch eine experimentell bewiesene Tatsache, dass beim Vorliegen einer gewissen Reaktionsbereitschaft und über einer gewissen Reizstärke eine der drei Reaktionen auch künstlich durch Reize hervorgerufen werden kann, die an den verschiedensten Punkten oder allseitig in gleicher Intensität wirken. Der hierbei einsetzende »Motorreflex« ist natürlich manchmal sinnlos. Es fragt sich allerdings, ob man aus solchen grösstenteils nur unter Laboratoriumsverhältnissen verwirklichbaren Versuchen weitgehendere Folgerungen ziehen darf, hauptsächlich in dem Sinne, dass hier die Einwirkungsart des Reizes anders ist als bei allen bisher untersuchten Bewegungsreaktionen.

Aller Wahrscheinlichkeit nach handelt es sich hier lediglich darum, dass mit der Steigerung der Reizintensität schliesslich ein Stärkegrad erreicht wurde, bei dem der einzellige Organismus auf jede lokale Reizwirkung in seiner ganzen Ausdehnung praktisch gleichzeitig in einen Erregungszustand gerät. Die Koordinationsimpulse der ungestörten freien Fortbewegung wurden also für einige Zeit an der ganzen Körperoberfläche vollständig unterdrückt. An der ausgelösten Reaktion nimmt dann jedes Einzelement des lokomotorischen Apparates genau so teil wie das andere, u. zw. mit der maximalen Bewegungsänderung, nämlich mit der völligen Umstellung der gewöhnlichen Schlagrichtung. Der wirksame Schlag sämtlicher Zilien richtet sich also vom Anfang bis zum völligen Erlöschen des Erregungszustandes gleichförmig gegen das Vorderende hin. Der Umstand jedoch, dass jede einzelne Zilie — unabhängig von ihrer Entfernung vom Reizpunkt — mit dem maximalen überhaupt auslösbarer Effekt antwortet, schliesst von vornherein die Möglichkeit aus, dass sich die Richtungsänderung des Zellkörpers selber so dem Angriffspunkt des Reizes anpasst, wie dies bei unterschwelligen Reizen der Fall ist. Zieht man indessen in Betracht, dass unter natürlichen Umgebungsverhältnissen die Reizwirkungen das sich ständig bewegende Tier naturgemäss an seiner vorderen Körperhälfte treffen, so ist es offenbar, dass der Gesamteffekt dieser gleichsinnig veränderten Einzelleistungen, d. h. das heftige Zurückschiessen des Körpers mit dem Hinter-

ende voran, die natürlichste und radikalste Methode zur Vermeidung der unangenehmen Reizgebiete ist.

Beim Zurückprallen und Rückwärtsschwimmen bedarf diese Behauptung keiner besonderen Begründung. Doch spielt, wie zu sehen war, selbst in der Auslösung der aboralen Abwendung des vorderen Körperendes eine Funktionsänderung der Körperzilien, nämlich ihr einmaliger wirksamer Ruderschlag, die entscheidende Rolle. Die gleichzeitige einseitige Abwendung der Körperachse ist lediglich eine Folge davon, dass sich der durch die schwächeren Reize hervorgerufene allgemeine Erregungszustand nicht auf das Gebiet des eingesunkenen Peristomalfeldes ausdehnt.

Im Zusammenhang mit den obigen Ausführungen ist noch darauf hinzuweisen, dass keine der besprochenen Reizbewegungen in ihrer Auslösung an eine bestimmte, etwa besonders reizbare Stelle der Körperoberfläche gebunden ist. Es lässt sich diesbezüglich blos feststellen, dass die teilweise Änderung der normalen Zilientätigkeit meistens an der vorderen Körperhälfte auftritt. Den Anzeichen nach ist sogar auch zur Auslösung der zuletzt besprochenen maximalen Bewegungsantworten eine Reizwirkung von verschiedener Intensität notwendig, je nachdem ob der Angriffspunkt in die Nähe des vorderen oder des hinteren Körperendes fällt. In dieser Beziehung ist auf jenen Befund hinzuweisen, wonach ein und derselbe Reiz am vorderen Körperende eine heftige Rückwärtsbewegung, am hinteren Pol dagegen nur eine plötzliche Beschleunigung der Normalbewegung des Tieres zur Folge hat ([8], vgl. auch ebenda Abb. 29 und 30). Alle diese Erfahrungen lassen sich vielleicht mit einer Feststellung mancher früherer Verfasser erklären: die *Paramecium*-Zelle ist zwar rundherum für die verschiedensten Reizarten praktisch gleich empfindlich, doch nimmt die Erregbarkeit von vorne nach hinten allmählich etwas ab.

Zusammenfassend kann man also sagen, dass die Raumorientierung von *Paramecium* keineswegs nur eine scheinbare ist und dass keine der geschilderten Reaktionen in jeder Beziehung als phobisch gedeutet werden kann. Gleichzeitig können sie, obzwar eine unmittelbare Beziehung der ausgelösten Reizbewegungen zur räumlichen Lage der Reizquelle unverkennbar ist, dennoch nicht im Sinne der heutigen Definition als echte Topotaxien betrachtet werden, da der richtende Einfluss des auslösenden Reizes nicht anhaltend ist. Der richtig orientierte Zustand wird nur durch einfache, kurze, der jeweiligen Reizsituation angepasste Richtungsänderungen des Körpers verwirklicht.

Diese auffallende Erscheinung hängt offensichtlich mit einer gemeinsamen Eigenschaft der hier untersuchten Reizarten zusammen. Die Reichweite der unangenehmen mechanischen, chemischen und thermischen Reizarten ist nämlich räumlich eng begrenzt. Ihr Einfluss gelangt nur dann zur Geltung, wenn das Tier mit der Reizquelle bzw. mit der reaktionsauslösenden Konzentrationszone in unmittelbare Berührung kommt. Dann erfolgt meistens eine einfache Bewegungsänderung, die den betroffenen Körperteil plötzlich vom Reizort zurückwirft. Damit wird jedoch auch der richtende Einfluss des unangenehmen Reizes aufgehoben, denn der Körper gelangt ja bereits in ein reizloses Gebiet, in eine Konzentrationszone, die den Schwellenwert der Unterschiedsempfindlichkeit bereits nicht mehr erreicht. Die negative Bewegungsantwort gegenüber den betreffenden drei Reizarten kann also notwendigerweise nur kurz ausfallen. Es tritt keine vollständige Einstellung in den Zustand des Erregungsgleichgewichtes infolge einer symmetrischen Reizung gegenüberliegender Flanken ein, sondern dieser Prozess setzt nur ein, wobei fallweise verschiedene Stadien der Entwicklung erreicht werden. Dementsprechend kann auch die

Reaktion verschieden stark ausfallen. Da aber der natürliche Zustand von *Paramecium* die Aktivität, der ständige Antrieb zur Bewegung ist, so genügt bei einer repulsiv wirkenden Reizung schon eine einfache Veränderung der Achsstellung, dass die aufs neue einsetzende normale Schlagweise der Zilien das Tier aus dem unzukömmlichen Reizgebiet endgültig wegführt.

Unter diesen Feststellungen bildet selbst die häufig eine lange Zeit andauernde Rückwärtsbewegung keine Ausnahme. Es war ja zu sehen, dass die physiologische Basis dieser Reaktionsart ein sich auf den ganzen Protistenkörper plötzlich ausbreitender Erregungszustand ist, der in einer besonderen, eine längere oder kürzere Zeit fortgesetzten Schlagweise der Gesamtziliatur abgeleitet wird. Die Wirkung des Reizes erschöpft sich also einzig und allein in der Auslösung dieses Erregungszustandes, in der Inbetriebsetzung des speziellen Zilienmechanismus. Die Erscheinungsform der Rückwärtsbewegung, ihre Richtung und wahrscheinlich sogar auch ihre Dauer haben sich im Augenblick der Reizung bereits entschieden. Wenn also die Reaktion einmal eingesetzt hat, setzt sie sich bis zu ihrem Ende fort, ohne dass die primär angenommene Achsstellung nachträglich korrigiert werden könnte oder einer solchen Korrektionsbedürftigkeit.

Mit einer dauernd gerichteten Reizbewegung innerhalb der Kategorie der in einem eng beschränkten Bezirk wirkenden Reizarten wird man im Sinne der obigen Erörterungen höchstens im Falle von chemischen oder thermischen Reizen rechnen können, die anziehend auf den Infusor wirken. In diesem Falle wird man nämlich voraussetzen dürfen, dass das sich in die Diffusionssphäre des angenehmen Reizstoffes hineindrehende Tier von der stets zunehmenden Reizintensität allmählich zum Reizzentrum geführt wird.

Schliesslich wird der Ablauf der Bewegungsreaktionen im Bereich der übrigen Reizarten — wo also die Intensität bzw. die Wirksamkeit des Reizes mit der wachsenden Entfernung nicht wesentlich abnimmt — notwendigerweise wieder anders ausfallen. So kann sich das Tier von dem Einfluss der Erdschwere oder des galvanischen Stromes durch eine einmalige Veränderung seiner Achsstellung offensichtlich nicht befreien, sondern seine Bewegungsrichtung bleibt dauernd durch die räumliche Verteilung der Reizstärke bestimmt.

Der KÜHNSCHE Einteilungsvorschlag der Verhaltensweisen brach mit der Auffassung, dass die einzig mögliche Methode zur Beantwortung der Reize die Fluchtreaktion ist, so dass er im Vergleich zu der JENNINGSSCHEN Konzeption zweifellos einen wesentlichen Fortschritt bedeutet. Parallel zur Zunahme unserer Kenntnisse bricht sich jedoch immer mehr die Erkenntnis Bahn, dass es selbst mit Hilfe des hier angewandten Ordnungsprinzips nicht gelungen ist, die mannigfaltigen Formen der Orientierungsreaktionen zu charakterisieren und vor allem ihr Wesen zu erfassen [3].

Bei den Einzellern wird einerseits durch das Taxisschema KÜHNS nach der Art der Reizbarkeit bzw. nach dem physiologischen Mechanismus der Orientierung eine scharfe Scheidewand zwischen den einzelnen Reizbewegungen errichtet, die vielleicht überhaupt nicht existiert. Zumindest bei *Paramecium* konn-

ten nämlich im Laufe unserer Untersuchungen keine Reaktionsarten gefunden werden, die den Kriterien der Phobotaxien völlig entsprechen und daher nur durch »Probieren« zum Ziele führen. Zu dem Aktionssystem dieses Tieres gehören zwar auch verschiedene Varianten der stereotypen Bewegungsantworten (»Motorreflexe«), unter natürlichen Umgebungsverhältnissen bringen indessen auch diese das Tier in eine günstigere Lage relativ zur Reizquelle, und übrigens ist auch ihre ökologische Bedeutung gering. Andererseits wird im Sinne der Taxislehre der Begriff der echten Richtungsbewegungen ausschliesslich auf die Kategorie der dauernd gerichteten Reaktionsarten, wie z. B. der Geo- und Galvanotaxis beschränkt, so dass gerade diejenigen kurzen Einstellbewegungen unbeachtet gelassen wurden, auf denen die Raumorientierung des Tieres in erster Linie beruht.

Wenn die bisherigen, allzu unvollständigen Ergebnisse überhaupt einen verallgemeinernden Schluss zulassen, dann ist bei *Paramecium* nach dem Mechanismus der physiologisch-ursächlichen Entstehung in der Tat blos eine einzige Art der Orientierungsweisen verwirklicht.

Im Sinne der in der vorhergehenden [8] sowie in der vorliegenden Arbeit begründeten Vorstellung können nämlich die sog. »Motorreflexe« (Dorsalabwendung, Zurückprallen, Rückwärtsschwimmen) nur als die oberen Grenzfälle ein und desselben Reaktionsprozesses aufgefasst werden. Durch eine weitere Verstärkung der Reizintensität über eine gewisse Grenze hinaus wird die ganz bestimmte Erscheinungsform der maximal auslösbarer Bewegungsantwort, nämlich des Rückwärtsschwimmens in einer Rechtsschraube, überhaupt nicht weiter verändert. Überschellige Reize können nur die Ablaufzeit der Reaktion verlängern. Von dieser vollständig ausgeführten Reaktionsform abwärts gibt es aber mit der allmählichen Verminderung der Reizstärke einen stufenweisen Übergang bis zu den allereinfachsten Vermeidungsreaktionen. Alle diese von unterschwelligen Reizen ausgelösten Teilhandlungen sind nur als submaximale Reaktionen gedeutet worden, bei denen die gewöhnliche Schlagweise des gesamten lokomotorischen Apparates je nach dem Angriffspunkt und dem Stärkegrad des Reizes blos partiell, u. zw. fallweise in anderen Körpergegenden, in wechselndem Ausmass und Umfang umgestellt wird. Es hängt lediglich von der Reichweite der betreffenden Reizart ab, ob die so entstandene Asymmetrie in der Verteilung der Triebkräfte nur eine momentane Störung der gewöhnlichen regelmässigen Bahnform zeitigt oder ob sie — wie bei der Galvanotaxis — eine längere Zeit andauert. — Die gefundene Reihe von Übergängen zwischen den zwei Extremen in der Ausführungsintensität der Reizbeantwortung weist also darauf hin, dass diese beiden Reaktionsformen nicht prinzipiell, nicht qualitativ, sondern nur quantitativ voneinander abweichen.

Was nun die Faktoren betrifft, die von Seiten des Infusors das raumorientierte Verhalten bestimmen, scheinen — abgesehen vom jeweiligen physio-

logischen Zustand — vornehmlich zwei physiologische bzw. strukturelle Eigen-schaften des Organismus im jeweiligen Ausfall der Reizbeantwortung eine Rolle zu spielen.

Die erste ist jene Ureigenschaft des Protoplasmas, dass es je nach dem Wirkungsgrad des Reizes an jeder beliebigen Stelle des Körpers einmal nur auf den Reizungspunkt beschränkt, ein andermal sich wiederum auf einem grö-sseren Oberflächenbezirk dekrementiell ausbreitend und schliesslich, über einen gewissen Schwellenwert des Reizes hinausgehend, in seiner ganzen Ausdehnung in einen maximalen und langdauernden Erregungszustand gerät. Als Folge der äusseren Einflüsse werden demzufolge die endogenen Erregungsimpulse, die die koordinierte Zilientätigkeit des Körpers primär regulieren [6], für eine kürzere oder längere Zeit partiell verändert oder völlig verdrängt.

Dazu kommt noch die Motilität sowie die Verteilungsdichte und Anordnungs-weise der Erfolgsorganellen an der Körperoberfläche. Günstige Verhältnisse in dieser Beziehung ermöglichen es, dass der lokomotorische Apparat auf alle Erregungen, die in jeder beliebigen Körpergegend im verschiedensten Um-fang und mit der verschiedensten Intensität auftreten, prompt und empfind-lich zu reagieren vermag.

Dem Orientierungsprozess liegt also auch bei den Einzellern ein verwickel-ter Zusammenhang einerseits zwischen der Struktur bzw. den Lebensvorgängen des Organismus und andererseits den Kräften der Aussenwelt zugrunde. Nur der Gesamtheit der angeführten Faktoren ist es zu verdanken, dass sich anstatt des Probierverfahrens in gewissen Fällen bereits die rationelle, d. h. sich der jeweiligen Situation plastisch anpassende Formen der Reizbenatwortung in zahlreichen Varianten und in verschiedener Stärke verwirklichen konnten

## LITERATUR

(Weitere Angaben siehe in der Arbeit [8])

1. ALVERDES, F. (1923) Über Galvanotaxis und Flimmerbewegung. *Biol. Zbl.*, **43**, 50—96.
2. JENNINGS, H. S. (1914) Die niederen Organismen, ihre Reizphysiologie und Psychologie. Übers. von E. MANGOLD. Teubner, Leipzig—Berlin.
3. KOEHLER, O. (1913) Die Orientierung von Pflanze und Tier im Raume. II. Zoologischer Teil. *Biol. Zbl.*, **51**, 36—58.
- 3a. KOEHLER, O. (1934) Beiträge zum Verhalten von *Paramecium*-Teilstücken. *Zool. Anz.*, **7**, 74—84.
4. KÜHN, A. (1919) Die Orientierung der Tiere im Raum. G. Fischer, Jena.
5. PÁRDU CZ, B. (1954) Reizphysiologische Untersuchungen an Ziliaten. I. Über das Aktions-system von *Paramecium*. *Acta Microbiol. Hung.*, **1**, 175—221.
6. PÁRDU CZ, B. (1954) Reizphysiologische Untersuchungen an Ziliaten. II. Neuere Beiträge zum Bewegungs- und Koordinationsmechanismus der Ziliatur. *Acta Biol. Hung.*, **5**, 169—212.
7. PÁRDU CZ, B. (1955) Reizphysiologische Untersuchungen an Ziliaten. III. Über die Tätigkeit der Peristomalzilien von *Paramecium*. *Ann. Hist. Nat. Mus. Nat. Hung.*, **6**, 189—195.
8. PÁRDU CZ, B. (1956) Reizphysiologische Untersuchungen an Ziliaten. IV. Über das Empfin-dungs- bzw. Reaktionsvermögen von *Paramecium*. *Acta Biol. Hung.*, **6**, 289—316.

## ИССЛЕДОВАНИЯ ФИЗИОЛОГИИ ВОЗБУЖДЕНИЯ РЕСНИЧНЫХ ИНФУЗОРИЙ

### V. Данные к физиологии реакции побега Дженнингса и к физиологии ориентировки в поле раздражения

Вторая фаза типической реакции побега *Дженнингса*, так наз. вороночное движение тела не относится к самой реакции, а представляет собой уже наружное проявление процесса обратной регуляции. Остальная фаза реакции побега же является максимальным ответным движением туфельки: нормальное направление взмаха каждой отдельной реснички совершенно и длительно поворачивается. Из этого следует стереотипный характер реакции, «моторный рефлекс», который, однако, несмотря на это, и по меньшей мере при естественных условиях среды, правильно направлен в отношении источника раздражения.

Вместо этого полностью осуществленного ответного движения подпороговые раздражения вызывают различные разновидности частичных реакций. В таких случаях плоскость взмаха ресничек временно различна на различных участках поверхности тела, и направление взмаха ресничек поворачивается в различной степени. Самое простое движение отклонения и длительное обратное плавание являются лишь верхним и нижним пределами одной и той же реакции. Общей физиологической основой всех движений, вызываемых раздражением, является то свойство протоплазмы, что она на любой области тела может попасть в состояние возбуждения, сила и распространение которого зависит от эффективности и от точки нападения раздражения. Координационные импульсы, первично регулирующие нормальные движения ресничек, в течение более или менее длительного времени модифицируются или же совершенно подавляются волнами возбуждения, возникающими вследствие внешних раздражений.

Хотя вся клетка туфельки проявляет практически одинаковую чувствительность к раздражениям, но со стороны организма, благодаря вышеупомянутому простому физиологическому процессу, и далее вследствие подвижности органеллов движения, так же как и их распределения с равномерной густотой, вместо обстоятельного метода пробования были вызваны многочисленные варианты и ряд ступеней непосредственных, то есть рациональных форм ответных реакций на раздражение. Длительность «моторных рефлексов» зависит от силы надпорогового раздражения, вызывающего рефлекс, а длительность частичных реакций — от области действия отталкивающего подпорогового раздражения.

### STUDIES ON THE REACTIONS TO STIMULI IN THE CILIATE INFUSORIA

### V. On the physiological mechanism of the avoiding reaction and of the orientation in space

The second phase of the typical avoiding reaction of the *Paramecium* as described by *JENNINGS*, i. e. the conical rotation, is not a part of the reaction itself but subsequent to it; it is a „counter reaction” by which the „back regulation” manifests itself. The remaining phase of the escape reaction is the maximum locomotive response of the animal which reacts to the stimulus by a complete and lasting reversal of the normal ciliary beat. Hence the stereotyped character of the reaction („motor-reflex”) which, given normal conditions in the surrounding medium and with reference to the source of the stimulus, is nevertheless a purposeful directive action.

Instead of such complete locomotive response various forms of partial reactions are elicited by subliminal stimuli. The animal responds to such stimuli by temporarily changing the plane of the ciliary beat on some part of the cell surface; the situation of this part, its extent and the angle at which the said plane is turned depend on the nature and site of the stimulating agent. The most simple avoiding reaction and the steady retreat are but the two extremes of one and the same reactive process. Physiologically, every kind of stimulated motion is based on the phenomenon that stimuli induce a state of irritation in the protoplasm at any point of the body, the intensity and range of the irritation being contingent upon the strength and the point of attack of the stimulus. These waves of irritation induced by external stimuli have the effect of partially modifying or completely suppressing for some time the co-ordinating impulses that govern normal ciliary activity.

Although, practically, the reception of the stimuli occurs uniformly over the entire surface of the Paramecium cell, the above-described simple physiological process in the organism, as well as the motility and the evenly distributed density of the locomotor organelles have made it nevertheless possible that, instead of the trial and error method, various forms and degrees of direct, and thus rational, reactions to stimuli could be evolved. The duration of the „motor reflexes” depends on the intensity of stimuli that are above the threshold, while that of the partial reactions depends on the radius of action of the subliminal repulsive stimuli.

BÉLA PÁRDUCZ, Budapest VIII, Baross u. 13., Ungarn.



# WIRKUNG DES 3,4-BENZPYRENS AUF SÜSSWASSERMUSCHELN

L. HARANGHY

II. PATHOLOGISCH-ANATOMISCHES INSTITUT, MEDIZINISCHE UNIVERSITÄT, BUDAPEST  
(VORSTAND: L. HARANGHY)

(Eingegangen am 9. November 1955)

## Zusammenfassung

Die früheren Untersuchungen des Verfassers erbrachten den Nachweis, dass die mit den Oxydationsverhältnissen zusammenhängende Zilientätigkeit der Muscheln die wasserklärende Fähigkeit derselben in grossem Masse beeinflusst. Zwecks Studiums der Wasserklärungsfähigkeit der Muscheln wurde von dem Verfasser ein System ausgearbeitet, mit dessen Hilfe er an den Muscheln *Dreissena polymorpha*, *Anodonta cygnea*, *Unio pictorum* und *Unio tumidus* die Wirkung der 3,4-Benzpyren-Injektionen studierte. Die 0,5 gr schweren *Dreissena* erhielten 0,0002 mg, die *Anodonta* und *Unio* 0,001 mg Benzpyren in den Eingeweidesack. Die Wirkung der wasserklärenden Fähigkeit erfolgte, neben blinden Versuchen, im Wege eines Vergleiches mit Kontrollversuchen in Stärke und Karmin enthaltendem trübem Wasser. Die Trübung des Wassers wurde auf Grund eines vom Verfasser früher ausgearbeiteten Verfahrens mit Hilfe einer Schriftprobe festgestellt. Aus den Ergebnissen der Untersuchungen ging hervor, dass während in den Kontrollversuchen sämtliche Muscheln bereits innerhalb von 9—11 Stunden das Wasser klärten, brachten die am schnellsten klärende *Dreissena* am ersten Tage eine kaum nennenswerte, und die übrigen Muscheln überhaupt keine Klärung zustande. Die *Dreissena* beendigte die Wasserklärung nur in den Abendstunden des zweiten Tages, die übrigen Muscheln erreichten dasselbe Resultat in den Früh- bzw. Mittagsstunden des vierten Tages. Die Unterschiede sind also derartig gross, dass aus ihnen mit vollem Recht auf die durch das Benzpyren verursachte Abnahme der Wasserklärungsfähigkeit gefolgt werden darf. Dieser Umstand weist darauf hin, dass durch die Injizierung von Benzpyren die Zilientätigkeit bzw. der ganze Stoffwechsel der Muscheln in bedeutendem Masse beeinflusst wird. Die Methode dürfte demzufolge geeignet sein, mit ihrer Hilfe die von den kanzerogenen Stoffen auf den ganzen Organismus ausgeübte Wirkung von gewissen Gesichtspunkten aus studieren zu können.

Bezüglich des Wirkungsmechanismus der kanzerogenen Kohlwasserstoffe wie Benzpyren, Methylcholanthren, Dibenzanthrenen, usw., sind sich die Forscher auch noch heute nicht einig. Einzelne betonen hauptsächlich die lokale Wirkung der Stoffe, während andere der Ansicht sind, dass es sich bei den kanzerogenen Kohlenwasserstoffen um den ganzen Organismus schädigende Stoffe handelt und die Entstehung des Krebses das Ergebnis eines den Stoffwechsel des ganzen Organismus in Mitleidenschaft ziehenden Vorgangs ist.

Nach unseren früheren Untersuchungen hängt die Intensität der wasserreinigenden Fähigkeit der Süßwassermuscheln in erster Reihe von der Wirkungstärke des die Mantelhöhle von innen bedeckenden Zilienepithels ab. Es ergab sich also die Frage, ob im Falle einer Behandlung der Muscheln mit 3,4-Benzpyren, die infolge der Benzpyrenwirkung entstandene Stoffwechselveränderung bzw. die damit zusammenhängende Zilientätigkeit in der Mantelhöhle, in einer Veränderung der wasserreinigenden Fähigkeit zum Ausdruck kommt.

Bekanntlich verursachen die innere Manteloberfläche der Muscheln, die Kiemenblättchen und die Mundlappen bedeckenden Zilienepithelzellen in der Mantelhöhle eine ständige Wasserströmung, die von der branchialen Öffnung des Mantels, zwischen den Kiemenblättchen, zu der auf der entgegengesetzten Seite befindlichen Mundöffnung und von hier sich zurückwendend, durch die suprabranchiale Höhle, zur Kloakensyphonöffnung des Mantels führt. Die im Wasser suspendierten lebenden und leblosen Stoffe gelangen also in die Mantelhöhle der Muschel und von da, falls sie als Nahrung nicht aufgenommen werden, neuerdings in die Aussenwelt. Demzufolge können wir uns die wasserreinigende Wirkung der Muscheln theoretisch entweder so vorstellen, dass die im Wasser befindlichen organischen Stoffe, Mikro- und Nannoplankton, als Nahrung verwendet werden oder so, dass die durch die Mantelhöhle gewanderten, aber nicht aufgenommenen Teilchen leichter sedimentieren. Die von uns im Biologischen Institut von Tihany, ferner an der Zoologischen Station von Neapel durchgeführten Untersuchungen erbrachten den eindeutigen Beweis [1, 2], dass in der wasserklärenden Wirkung der Muscheln die Verwendung des Mikro- und Nannoplanktons als Nahrung, von untergeordneter Bedeutung ist und praktisch nicht berücksichtigt werden muss. Die wasserklärende Fähigkeit ist das Resultat der innerhalb des Mantels vor sich gehenden lebhaften Wasserströmung, wodurch die rasche Sedimentation der suspendierten Stoffe ermöglicht wird. Die von uns durchgeführten Untersuchungen bestätigten, dass die Dauer der Klärung bei den verschiedenen Seemuscheln (*Ostrea*, *Mytilus*, *Lithodomus*, *Modiola*, *Mactra*, *Venus*, *Pecten*, usw.) sowie bei den Süßwassermuscheln von der Temperatur des Wassers, vom Sauerstoff- und Salzgehalt desselben und von anderen Faktoren abhängt, die in ihrer Gesamtheit wiederum die Intensität der Zilientätigkeit der in der Mantelhöhle befindlichen Zelle bestimmen.

In unseren früheren Versuchen wurde die Bestimmung der Wasserklärungsfähigkeit auf folgende Weise durchgeführt: Die zur Untersuchung gelangenden Muscheln wurden in gleich grosse Glasgefässe gelegt. Als Versuchsflüssigkeit dienten 10 l nicht filtriertes Balatonwasser, zu dem 2 kg Sand und 50 ml einer kalt gesättigten Karminlösung gegeben wurden. Nach gründlichem Schütteln wurde die Flüssigkeit so verteilt, dass sich über jeder Muschel eine gleich hohe, ungefähr einem halben Liter entsprechende Wassersäule befand. Die Gefässe wurden dann mit einer Glasplatte bedeckt und an vor Erschütterung tunlichst gesicherten Orten gehalten, wo sie auch vor direkter Sonnenwirkung geschützt waren. Die Tiere blieben 24 Stunden in der Flüssigkeit. Die Vorversuche verfolgten einzig den Zweck, die Tiere an die äusseren Umstände des Experiments zu gewöhnen und ihnen Gelegenheit zu geben, sich in den abgelagerten Sand einzunisten, bzw. den *Dreissena*-Muscheln, sich an der Glaswand entsprechend festzusetzen. Am Tage des Versuches, frühmorgens wurde das Wasser mit Hilfe eines Saugrohrs entfernt und in jedes Gefäß vorsichtig wieder ein halber Liter Wasser geträufelt, das jedoch schon keinen Sand mehr enthielt. Die Flüssigkeit

bestand also nur aus Balatonwasser und Karminlösung. Die Trübung bzw. die Durchsichtigkeit der Flüssigkeit wurde mit Hilfe einer hinter das Glasgefäß gelegten Schriftprobe beurteilt. Bei der Durchsichtigkeitsprobe wurde eine 5 mm hohe, 60 mm lange schwarz und lichtblau gedruckte Buchstabenreihe und eine 2 mm hohe, 5 mm lange schwarze und lichtblaue Zahlenreihe verwendet. Die Durchsichtigkeitsgrade erhielten die Numerierung VI—I. Es ergab sich folgendes Bild. VI: die Schriftprobe ist nicht zu sehen, V: der Abstufungsunterschied der Buchstaben kann unterschieden werden, IV: die Buchstaben sind zu entnehmen, doch nicht die Zahlen, III: Buchstaben und Zahlen sind zu entnehmen, die Flüssigkeit ist mässig getrübt, II: Buchstaben und Zahlen sind gut zu entnehmen, in der Flüssigkeit ist nur mehr eine feine Trübung vorhanden, I: die Flüssigkeit ist vollkommen klar. Die Trübungsprobe wurde auch mit einem Nephelometer kontrolliert. Die einzelnen Ablesungen wurden im Laufe der Experimente in Tihany 1/4 und 1/2stündig durchgeführt. Aus den Untersuchungen ging hervor, dass unter den Süßwassermuscheln die Exemplare der *Dreissena* die verhältnismässig stärkste wasserreinigende Wirkung ausüben. Genannte Muscheln konnten 500 ml Versuchsflüssigkeit innerhalb 8 1/2—9 Stunden vollständig reinigen. Die *Unio*-muscheln beendigten die Reinigung des Wassers in 10 1/2, die Exemplare der *Anodonta* in 9 1/2 Stunden.

Im Besitze der mitgeteilten Angaben setzten wir unsere Versuche im Biologischen Institut von Tihany fort. Als Kanzerogen verwendeten wir die ölige Lösung von 3,4-Benzpyren. Für diesen Zweck wurden in 10 ml Oleum olivarum 10 mg Benzpyren gelöst. Dieser Lösung entnahmen wir 1 ml, welche Menge also 1 mg Benzpyren enthielt. Dieses 1 ml wurde mit 100 ml Oleum olivarum verdünnt. Demnach entfiel auf 1 ml der Lösung 0,01 mg Benzpyren. Von dieser Lösung wurden den Exemplaren der *Anodonta* und den beiden *Unio*-arten 0,1 ml den Wandermuscheln 0,02 ml injiziert, was soviel bedeutete, dass die Exemplare der ersten Gruppe 0,001 mg, die der zweiten 0,0002 mg Benzpyren erhielten. Die Dosierung wurde so durchgeführt, dass wir bei jeder einzelnen *Anodonta* und *Unio* die Schale in gleicher Entfernung, oberhalb des Wirbels, mit Hilfe eines Drillbohrers durchbohrten und den Stoff mit einer Tuberkulin-Spritze in den Eingeweidesack injizierten. Um die Injektionsstelle und das Eindringen des Stoffes in den Eingeweidesack entsprechend kontrollieren zu können, wurde der Injektionsstoff mit Tusche gefärbt. Bei den *Dreissena* Individuen injizierten wir den Stoff an der Eintrittsstelle des Byssus. Die behandelten Muscheln wurden vor dem Experiment zwei Tage lang beobachtet. Ein Teil der Tiere ging zugrunde. Von 31 Exemplaren der *Dreissena* blieben 16 am Leben, von 9 *Anodonta cygnea* Muscheln ging nur eine zugrunde, von 5 Individuen der *Unio pictorum* blieben alle am Leben, hingegen von 8 der *Unio tumidus* nur 5. Von den am Leben gebliebenen Tieren wurden in den Vorversuchen 12 *Dreissena polymorpha*, 8 *Anodonta cygnea*, 5 *Unio pictorum* und 4 *Unio tumidus* eingestellt. Von diesen Tieren wurden endgültig 10 Individuen der *Dreissena polymorpha*,

Tabelle 1

Art	Anzahl	Gewicht in g	Zeitpunkt des Versuches, Tag* und Stunde																				
			Erster Tag										Zweiter Tag					Dritter Tag				Fünfter Tag	
der Tiere			8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	8	12	18	8	12	18	8	12
<i>Dreissena polymorpha</i> Kontroll ...	10	0,5	VI	VI	VI	VI	V	IV	III	III	II	I											
<i>Dreissena polymorpha</i> Versuch ...	10	0,5	VI	VI	VI	VI	VI	VI	VI	VI	VI	V	V	V	III	II	I						
<i>Anodonta cygnea</i> Kontroll .....	5	25—31	VI	VI	V	V	V	IV	IV	III	III	II	I										
<i>Anodonta cygnea</i> Versuch .....	5	25—31	VI	VI	VI	VI	VI	VI	VI	VI	VI	VI	VI	VI	V	V	IV	II	II	I			
<i>Unio pictorum</i> Kontroll .....	3	24—28	VI	VI	VI	VI	V	IV	IV	IV	III	II	I										
<i>Unio pictorum</i> Versuch .....	3	24—28	VI	VI	VI	VI	VI	VI	VI	VI	VI	VI	VI	VI	V	V	III	III	III	II	I		
<i>Unio tumidus</i> Kontroll .....	3	15—21	VI	VI	V	V	V	IV	III	II	II	I	I										
<i>Unio tumidus</i> Versuch .....	3	15—21	VI	VI	VI	VI	VI	VI	VI	VI	VI	VI	VI	VI	VI	VI	VI	II	II	II	I		

\* Die Versuche wurden an *Dreissena* am 6. August, an *Anodonta* und *Unio* am 8. August begonnen.

5 der *Anodonta cygnea*, 3 der *Unio pictorum* und 3 der *Unio tumidus* in den Versuch einbezogen. Bei sämtlichen Versuchen wurden unbehandelte Muscheln zur Kontrolle verwendet. Von den Kontrolltieren erhielten 5 Exemplare der *Dreissena*, 3 der *Anodonta cygnea* und je zwei der beiden *Unio*-arten Öl ohne Benzpyren. Daneben wurde bei jeder Versuchsreihe ein blindes Experiment ohne Muschel durchgeführt, um auf diese Weise auch das Mass der spontanen Sedimentation berücksichtigen zu können. Die Versuche begannen am 6. August mit der *Dreissena*-Muschel. Die Exemplare der *Anodonta* und der beiden *Unio*-arten kamen am 8. August an die Reihe. Die beiden Versuchsreihen wurden deshalb zu verschiedenen Zeitpunkten eingestellt, weil uns die entsprechende Anzahl von Glasgefäßen nicht zur Verfügung stand. Doch eben infolge der geringen Anzahl der Gefäße konnte die Kontrolle der Versuche mit grösster Sorgfalt durchgeführt werden. Da den informativen Experimenten gemäss die Versuche länger als 24 Stunden dauerten, wurde das ursprüngliche Untersuchungsverfahren derartig modifiziert, dass wir für die Versuche eine langsam sedimentierende Flüssigkeit verwendeten. Diese wurde so hergestellt, dass wir 5 l Balatonwasser mit 25 g Orysa, während ständigen Umröhrens, eine Viertel Stunde lang kochten. Dann liessen wir die Flüssigkeit 24 Stunden lang sedimentieren. Durch die vom Sediment abgegossene Flüssigkeit liessen wir eine halbe Stunde lang gründlich Luft strömen. Dann wurde die Flüssigkeit mit der bereits fertigen Karminlösung vermischt. Auf diese Weise erhielten wir eine trübe rote Flüssigkeit. Die Versuche wurden stündlich kontrolliert.

Die Versuche an *Dreissena polymorpha* wurden mit 0,5 gr schweren Tieren durchgeführt. Die Auswahl der Tiere mit gleichem Gewicht bereitete keine Schwierigkeiten, da uns für diesen Zweck viele Tiere zur Verfügung standen. Das Ergebnis der Versuche veranschaulicht Tabelle 1.

Aus dieser Tabelle geht hervor, dass die nicht behandelten Exemplare der *Dreissena* von 8 Uhr früh bis 17 Uhr abends, also innerhalb von 9 Stunden, das Wasser vollkommen reinigten. Dasselbe Resultat wurde bei behandelten Tieren erst am 7. August, innerhalb von 42 Stunden, beobachtet, die Klärung des Wassers nahm also bei diesen mehr als viermal soviel Zeit in Anspruch. Die Resultate zeigen den Mittelwert der Wasserklärungsfähigkeit der zehn Tiere. Es sei noch festgestellt, dass sich in den Werten keine wesentliche Abweichung zeigte. Auffallend ist, dass wir auch bei den vor ungefähr 20 Jahren, unter ähnlichen Versuchsverhältnissen durchgeführten Experimenten ein den Kontrollversuchen ähnliches Resultat erzielten. Bei den mit Benzpyren behandelten Tieren zeigte sich zwischen den einzelnen Versuchstieren kaum ein Unterschied, so dass die Mittelwerte tatsächlich den Durchschnittswerten entsprechen. So klärten z. B. am 7. August alle Tiere auf einmal bis 18 Uhr abends das Wasser zur Gänze und um 8 Uhr früh zeigte sich bei allen Tieren eine dem Grad III entsprechende Wasserklärung. Auch darin zeigte sich bei allen Tieren eine Übereinstimmung, dass am 6. August, bis 17 Uhr, kein einziges

die Klärung des Wassers begonnen hatte und im Vergleich zu den blinden Versuchen zeigte sich keine Abweichung. Von den drei anderen Werten wies nur je eine Muschel eine Abweichung auf und so nahmen wir als Durchschnittswert den Wert der grossen Mehrheit der Tiere an.

Die Ergebnisse der mit der *Anodonta cygnea* durchgeföhrten Kontrollversuche waren gleichfalls den Resultaten der früheren in Tihany ausgeführten Versuche ähnlich. Bereits damals wurde schon darauf hingewiesen, dass die Versuche mit der 0,5 gr schweren *Dreissena* zwar beweisen, dass die Wasserklärungsfähigkeit bei den 50mal schwereren oder ein noch grösseres Körpergewicht aufweisenden Tieren fünfzigmal grösser ist, aber solch ein grosser Unterschied bezüglich der Schnelligkeit der Wasserreinigung schon deshalb nicht wahrscheinlich ist, weil die 0,5 gr schwere Wandermuschel in dem halben Liter Wasser unter viel günstigeren Oxydationsverhältnissen lebt, als die 25mal und noch schwerere *Anodonta* in derselben Menge Wasser. Auf Grund der damaligen zahlreichen Versuche schien es unzweifelhaft, dass die wasserreinigende Fähigkeit der *Dreissena*, wenn auch nicht in solchem Masse, dennoch bedeutend grösser ist als die der *Anodonta*. Das wurde auch durch unsere gegenwärtigen Versuche bestätigt. Aus diesen ging hervor, dass die mit Benzpyren behandelten *Anodonta*-Muscheln in den ersten 20 Stunden das Wasser überhaupt nicht klärten. Auch in den ersten 12 Stunden des zweiten Tages zeigte sich — im Vergleich zu den blinden Versuchen — nur eine sehr geringe Sedimentation und die vollständige Klärung des Wassers erfolgte erst am Morgen des vierten Tages.

Die Ergebnisse der *Unio pictorum* und der *Unio tumidus*-Versuche stimmen im wesentlichen mit denen der *Anodonta* überein. Bei beiden *Unio*-arten zeigte sich in den ersten 20 Stunden keine wasserklärende Wirkung, obwohl in den Kontrollversuchen die Klärung des Wassers im grossen und ganzen der der *Anodonta cygnea* ähnlich war. Am 2. und 3. Tag waren die Ergebnisse der wasserklärenden Wirkung gleichfalls denen der *Anodonta* ähnlich und die vollständige Klärung des Wassers konnte nur in der Mittagsstunde des 4. Tages festgestellt werden. Sowohl in den *Anodonta* als auch in den *Unio*-Versuchen deuten die Resultate auf die Mittelwerte, wobei zu bemerken ist, dass das Ergebnis am ersten Tag bei allen Tieren übereinstimmte. Die übrigen Werte zeigen um so mehr das Resultat bei der Mehrheit der Tiere — bei zwei von drei Tieren, bei vier von fünf Tieren — weil die Unterschiede nur sehr gering waren. Der letzte Wert zeigte bei sämtlichen Tieren ein einheitliches Resultat.

Aus den Ergebnissen sämtlicher Versuche können wir also zur Feststellung gelangen, dass die wasserklärende Wirkung aller den Gegenstand der Untersuchung bildenden Süßwassermuscheln nach einer Behandlung mit 3,4-Benzpyren in grossem Masse abnahm. Es sei nochmals besonders hervorgehoben, dass während in den Kontrollversuchen die Klärung des Wassers bei sämtlichen Muscheln schon am ersten Tag, innerhalb von 9—11 Stunden erfolgte,

war eine wesentliche wasserklärende Wirkung in den ersten 20 Stunden bei keiner einzigen der behandelten Muscheln zu beobachten. Selbst die am schnellsten klärenden *Dreissena*-Individuen beendigten die Reinigung des Wassers erst in den Abendstunden des zweiten Tages und bei den übrigen Muscheln konnte dieses Ergebnis nur am 4. Tag beobachtet werden. Jedenfalls ist der Unterschied zwischen den Kontroll- und den mit Benzpyren behandelten Tieren so gross, dass die Erscheinung keinem Zufall zugeschrieben werden kann. Da aber, wie aus unseren früheren Untersuchungen hervorgeht, die wasserklärende Wirkung sich stets proportional zur Zilientätigkeit verhält, letztere hingegen, wie unsere Versuche in Helgoland beweisen, mit dem Gaswechsel der Muschel und so naturgemäß mit dem Stoffwechsel in Verbindung steht, kann festgestellt werden, dass sich der Stoffwechsel der Muschel, infolge der Behandlung mit Benzpyren, wesentlich veränderte, ein Umstand, der die allgemeine Wirkung des injizierten Benzpyrens bestätigt. Die hier beschriebene Methode ist jedoch auch dazu geeignet, das Studium der von den kanzerogenen Stoffen auf den Stoffwechsel ausgeübten Wirkung mit einer verhältnismässig einfachen Methode zu ermöglichen. Es ist Aufgabe der Zukunft, die Wirkung der verschiedenen kanzerogenen und nichtkanzerogenen Kohlenwasserstoffe von diesem Standpunkt aus zu vergleichen.

#### LITERATUR

1. HARANGHY, L. (1936) Unsere Süßwassermuscheln und der *Lithoglyphus naticoides* FER. als Faktoren der Selbstreinigungsfähigkeit der freien Gewässer. *Mat. Term.-Tud. Ért.*, **54** 952—978.
2. HARANGHY, L. (1938) Experimentelle Beiträge zur Kenntnis der Wasserreinigungs- und Wasserklärungrwirkung der Seemuscheln. *Publ. Staz. Zool. Napoli*, **17**, 58—91.
3. HARANGHY, L. (1942) Die Muschelvergiftung als biologisches Problem auf Grund der neueren diesbezüglichen Ursachenforschung. *Helgol. wiss. Meeresuntersuch.*, **2**, 279—353.
4. KOLLER, G. (1930) Versuche an marinem Wirbellosen über die Aufnahme gelöster Nährstoffe. *Z. vergl. Physiol.*, **11**.

#### ИССЛЕДОВАНИЯ ДЕЙСТВИЯ 3,4-БЕНЗПИРЕНА НА ДВУХСТВОРЧАТЫЕ МОЛЛЮСКИ

Прежние исследования автора выявили, что водоочистительная способность двухстворчатых моллюсков в большой степени зависит от мерцательной деятельности этих животных, связанной с условиями окисления. Автором был разработан метод для изучения водоочистительной способности двухстворчатых моллюсков. При помощи своего метода он изучал на видах *Dreissena polymorpha*, *Anodonta cygnea*, *Unio pictorum* и *Unio tumidus* влияния инъекций 3,4-бензпирена. Моллюски вида *Dreissena* весом в 0,5 г получили 0,0002 мг, моллюски родов *Anodonta* и *Unio* — 0,001 мг бензпирена в тулowiще. Исследования действия на водоочистительную способность проводились путем сравнения очищения мутной, содержащей крахмал и раствор кармина воды, в которой находились опытные или контрольные животные. Учитывалось и самоочищение мутной воды без животных. Мутность воды определилась разработанным автором уже раньше методом пробы ясности шрифта (ясность шрифта, видимого сквозь мутную воду, находящуюся в стакане, определяет степень мутности). Из результатов исследований выяснилось, что в то время как в контрольных опытах все моллюски очистили воду уже

в течение 9—11 часов, то моллюски вида *Dreissena*, очищающие воду быстрее всего, начали очистку воды в течение суток, а остальные моллюски за этот срок вовсе не осуществили водоочищение. Моллюски вида *Dreissena* закончили очистку воды лишь в вечерние часы второго дня, а остальные моллюски в утренние или обеденные часы четвертого дня. Проявлялись настолько значительные отклонения, что из них с полным правом можно делать заключения об уменьшении способности водоочистительной способности, вызванной бензпиреном. Результаты указывают на то, что впрыскивание бензпирена в значительной степени влияет на мерцательную деятельность, то есть на общий обмен веществ двухстворчатых моллюсков. Данный метод, по всей вероятности, предоставляет возможность изучать с известной точки зрения действие канцерогенных веществ на весь организм.

#### EFFECT OF 3,4-BENZOPYRENE ON FRESH-WATER MUSSELS

It was demonstrated by the author in the course of earlier investigations that the ability of the Lamellibranchia to clarify water is greatly influenced by their ciliary activity which again is connected with conditions of oxidation. A method has been elaborated by the author to study the water-purifying ability of mussels. It was by means of this method that the effect of 3,4-benzopyrene injected into the mussels *Dreissena polymorpha*, *Anodonta cygnea*, *Unio pictorum* and *Unio tumidus*, was studied. The doses of benzopyrene introduced to the visceral sac of the animals were 0,0002 mg in the case of the *Dreissena polymorpha* with a weight of 0,5 g, and 0,001 mg in the case of the *Anodonta* and the *Unios*. Both the test animals and the untreated controls were placed in water made turbid by solutions of starch and carmine: for the sake of comparisons also blind experiments were run. Using a method elaborated by the author in previous experiments, the degree of the water's turbidity was ascertained by means of the reading test. While the controls completely clarified the water within 9 to 11 hours, no clarification was brought about on the first day by any of the test animals except the *Dreissena* which are known to possess the quickest clarifying power. Complete clarification was not accomplished until the evening of the second day by the *Dreissena*, and the morning and midday of the fourth day respectively by the other treated mussels. The difference between the behaviour of the controls and tests is therefore wide enough to allow the conclusion that benzopyrene diminishes the water-clarifying power of the animals. Benzopyrene injections thus seem to exert a powerful influence on the ciliary activity or the entire metabolism of the mussels. The present method appears therefore to be suitable for being used in studying certain aspects of the effect exercised by carcinogens upon the whole organism.

LÁSZLÓ HARANGHY, Budapest IX, Üllői út 93., Ungarn.

# NEUE UNTERSUCHUNGEN ÜBER DEN GESCHLECHTS DIMORPHISMUS DER PRODISCOPHYREN

J. KORMOS und KATALIN KORMOS

INSTITUT FÜR SYSTEMATISCHE ZOOLOGIE, UNIVERSITÄT, SZEGED  
(VORSTAND: G. KOLOZSVÁRY)

(Eingegangen am 21. November 1955)

## Zusammenfassung

Es gelang solche *Prodiscophrya*-Klone zu finden, die, im Gegensatz zu dem zilienlosen und zu jeder Bewegung unfähigen Mikrokonjuganten der *Pr. collini* einen mit Zilien versehenen Mikrokonjuganten mit lebhafter Bewegung entwickeln, der sich von den vegetativen Schwärzern nur durch seinen mehrfach kleineren Wuchs unterscheidet. Konstitutionell stimmt der Makrokonjugant mit den vegetativen Individuen überein.

Es wurde festgestellt, dass sich die Basalkörperchen der Zilien auf dem nackten Mikrokonjuganten der *Pr. collini* in kurzen Reihen angeordnet entwickeln.

Aus einem Vergleich der vegetativen Schwärmer und der beiden Geschlechtsschwärmer geht hervor, dass der nackte Mikrokonjugant der *Pr. collini*, über den bewimperten Mikrokonjuganten hinweg, von den vegetativen Schwärzern abgeleitet werden kann. Daraus ergibt sich, dass der Geschlechtsdimorphismus der Prodiscophryen keine sekundäre, d. h. aus der Konjugation der entwickelten Individuen der isogamen Suktoren stammende, sondern eine primäre Erscheinung ist.

Die Entwicklung der vegetativen und sexuellen Formen erfolgt bei der neuen *Prodiscophrya*-Art mit derselben invaginativen Embryo-Bildung, wie bei der *Pr. collini* und auch die Paarung ist eine oogamieähnliche innere Konjugation. Das Eindringen der Mikrokonjuganten in den Körper des Makrokonjuganten ist ähnlich dem Eindringen des Schwärmers bei den parasitären Suktoren und kann mit dem Funktionswechsel der Skopula erklärt werden.

Bei beiden Prodiscophryen kann sich der Geschlechtsschwärmer in ein vegetatives Individuum verwandeln. Aus den mit den Nachkommen der Mikro- und Makrokonjuganten, ferner der vegetativen Individuen durchgeführten Versuchen geht hervor, dass die Konjugation in jedem Fall innerhalb des Klons erfolgt. Paarungstypen (mating types) sind bei der *Prodiscophrya* nicht anzutreffen.

Auch die neuen Untersuchungen bestätigen, dass die Mikro- und Makrokonjuganten — auf Grund des zwischen ihnen bestehenden konstitutionellen Unterschieds sowie des Verhaltens der sexuellen Vorkerne — als männliche und weibliche Tiere und nicht als Hermaphroditen betrachtet werden müssen. (Diese Feststellung kann auch auf die isogame Konjugation bezogen werden.)

Der Geschlechtsdimorphismus und die Konjugation der *Prodiscophrya* (*Podophyra*) *collini* Root sind bis heute das eigenartigste Beispiel für die Geschlechtsdifferenzierung und Paarung der Infusorien, ja vielleicht sogar sämtlicher Protozoen [13]. Das Geschlechtsleben dieser Protozoen verdient jedoch nicht nur infolge seiner Besonderheit unsere Aufmerksamkeit, sondern auch deshalb, weil wir dadurch zu einem sehr guten Untersuchungsobjekt in bezug auf viele allgemeine biologische Probleme der Infusorien gelangen.

## Untersuchungsmaterial und Methode

Das Einsammeln der *Prodiscophrya collini* ist meistens in solchen Gewässern leicht möglich, in denen viele Paramecien und kleine Holotrichen leben. In Szeged z. B. sind sie in Verwesungsstoffe enthaltenden Gewässern fast stets zu finden (Cserepes Graben, Mündung des-

Abflusskanals bei der Theiss). Als Nahrung werden Paramecien und Holotrichen (z. B. *Tetrahymena*) verwendet. Die Auslösung der Geschlechtsdifferenzierung und der Konjugation verursacht meistens keine Schwierigkeit, denn nach reichlicher Fütterung erscheinen — bei Entzug der Nahrung — sehr schnell die Geschlechtsformen.

Die Herstellung der zu den Untersuchungen nötigen mikroskopischen Präparate wird in grossem Masse durch den Umstand erleichtert, dass sich diese Protozoen hauptsächlich auf der Oberflächenhaut der Kulturflüssigkeit festsetzen. Die Nährflüssigkeit wird vorsichtig bis zur Höhe des Gefäßes eingefüllt und indem wir mit dem Objektträger die Oberflächenhaut berühren, wird die Haut mit den darauf festgesetzten Protozoen an den Objektträger geklebt.

Bei den gegenwärtigen Untersuchungen genügte es, die Eisenhaematoxylin-Methode von HEIDENHAIN und die FEULGEN-Methode, ferner das Versilberungsverfahren von KLEIN und GELEI—HORVÁTH zu verwenden.

### Die Frage des Geschlechtsunterschiedes und der Differenzierung bei den *Prodiscophryen*

Bei der Untersuchung der Geschlechtsdifferenzierung des Mikrokonjuganten der *Prodiscophrya collini* wurde die Beobachtung gemacht, dass die Eigenschaften, die sie von dem vegetativen Schwärmer unterscheiden, wenn auch nur sehr selten, doch immerhin gewissen Schwankungen unterworfen sind. Der mit einem kleinen Körper und einer einzigen pulsierenden Vakuole versehene männliche Konjugant, der überhaupt keine Zilien und eine nackte Pellikula hat, ist manchmal auch mit einer schütteren Ziliatur versehen (Abb. 1a). Am Anfang des Körpers des Tiers sind insgesamt vier Zilien entwickelt. Diese Zilien bewegten sich eine Zeitlang unbestimmt und brachen später, ohne dass sich das Tier von der Stelle bewegt hätte, ab. Der in Abb. 1b gezeigte Schwärmer unterscheidet sich schon auf eine auffallendere Weise von den gewöhnlichen Mikrokonjuganten, denn seine Ziliatur erinnert an das Zilienkleid des vegetativen Schwärmers. Die Reihen sind genau so angeordnet, doch die Zilien viel schütterer entwickelt. Eigenartigerweise bewegten sich jedoch die Zilien vollkommen ungeordnet und gaben dem Körper des Tieres so sehr keinen Schwung, dass die Trennung von den Eltern auf dieselbe passive Weise — durch Einschnürung der verbindenden Plasmabrücke und langsame Verdünnung der zurückgebliebenen Pellikula — erfolgte wie bei der Trennung des völlig zilienlosen männlichen Konjuganten. Die am hinteren Ende des Körpers sichtbaren, nach der Trennung noch vorhandenen Pellikulareste erinnern an den ähnlichen Charakter der zilienlosen Exemplare.

Die Mikrokonjuganten mit schütterer Ziliatur deuten darauf hin, dass die Geschlechtsdifferenzierung nicht immer befriedigend ist. Zwischen dem vegetativen, nicht geschlechtlichen und dem männlichen Schwärmer können auch Übergangsformen in Erscheinung treten. Leider kann das Schicksal dieser unbestimmt differenzierten Schwärmer mit Hilfe von Klonkulturen nicht bis zu Ende verfolgt werden, wir können aber annehmen, da uns die diplophenotypische Geschlechtsbestimmung der *Prodiscophrya* bekannt ist, dass sich die Nachkommenschaft geschlechtlich normal differenziert.

Zwecks weiterer Untersuchung der Geschlechtsdifferenzierung bei den Mikrokonjuganten wurden im Frühling des Jahres 1955 aus den von den genannten Sammelplätzen stammenden Populationen Klone gezüchtet. Dazu wurden wir in erster Reihe durch die Beobachtung veranlasst, dass in einer der Populationen — nach Entzug der Nahrung — den der vegetativen Vermehrung dienenden Schwärfern völlig ähnliche, doch bedeutend kleinere Schwärmer erschienen. Gleichzeitig mit dem Erscheinen dieser Schwärmer konnten am oberen Teil von vielen Individuen der entwickelten Tiere kugelförmige Organismen beobachtet werden, die manchmal ebenfalls kleine Schwär-

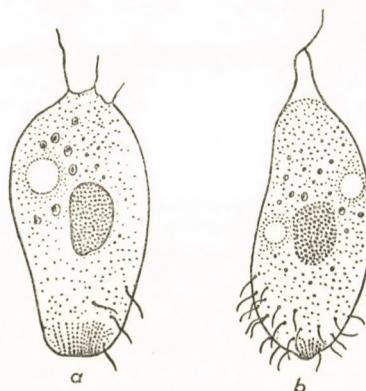


Abb. 1. Die nicht gänzlich differenzierten Mikrokonjuganten von *Prodiscophrya collini*. 1000×

mer entwickelten. Es ergab sich nun die Frage, ob es sich hier um Parasiten oder um Entwicklungsformen des Geschlechtslebens handelt.

Die Untersuchung der Klone erbrachte den Nachweis, dass der kleingewachsene Schwärmer mit dem zilienlosen Mikrokonjuganten der *Prodiscophrya collini* homolog ist. Er entspricht dem Mikrokonjuganten einer anderen *Prodiscophrya*-Art. Dies wird durch folgende Beobachtungen bestätigt.

1. Ihr Auftreten erfolgt in derselben Reihenfolge. Sie erscheinen in der Kultur, nachdem die Bildung der vegetativen Schwärmer aufgehört hat. Wird dann — nach reichlicher Fütterung — die Nahrung entzogen, so beginnt, ähnlich wie im Falle der ursprünglichen *Pr. collini*, die massenhafte Bildung der vegetativen Schwärmer. Dem Ernährungszustand entsprechend entwickeln die gestielten Tiere bei der *Prodiscophrya collini* 1—3 Schwärmer. Die zilienlosen Mikrokonjuganten erscheinen meistens zu dem Zeitpunkt, wenn die Schwärmerbildung bereits völlig aufgehört hat. Dann beginnt die Konjugation. Bei der neuen *Prodiscophrya*-Art entwickeln sich zuerst gleichfalls die grossen vegetativen Schwärmer, aber sporadisch treten recht bald auch die kleinen Schwärmer in Erscheinung. Ihre Anzahl nimmt allmählich zu, bis schliesslich die grossen Schwärmer verschwinden. Ein bis zwei Tage lang sind in der Kultur fast ausschliesslich nur die kleinen Schwärmer zu sehen.

2. Zwischen dem Mikrokonjuganten und dem vegetativen Schwärmer der *Pr. collini* besteht der Unterschied nicht nur im unbedingten Mangel der Ziliatur, sondern auch in der Körpergrösse. Betrug z. B. in einer Population die durchschnittliche Grösse des Schwärmers  $30 \times 80 \mu$ , so beträgt die des Mikro-

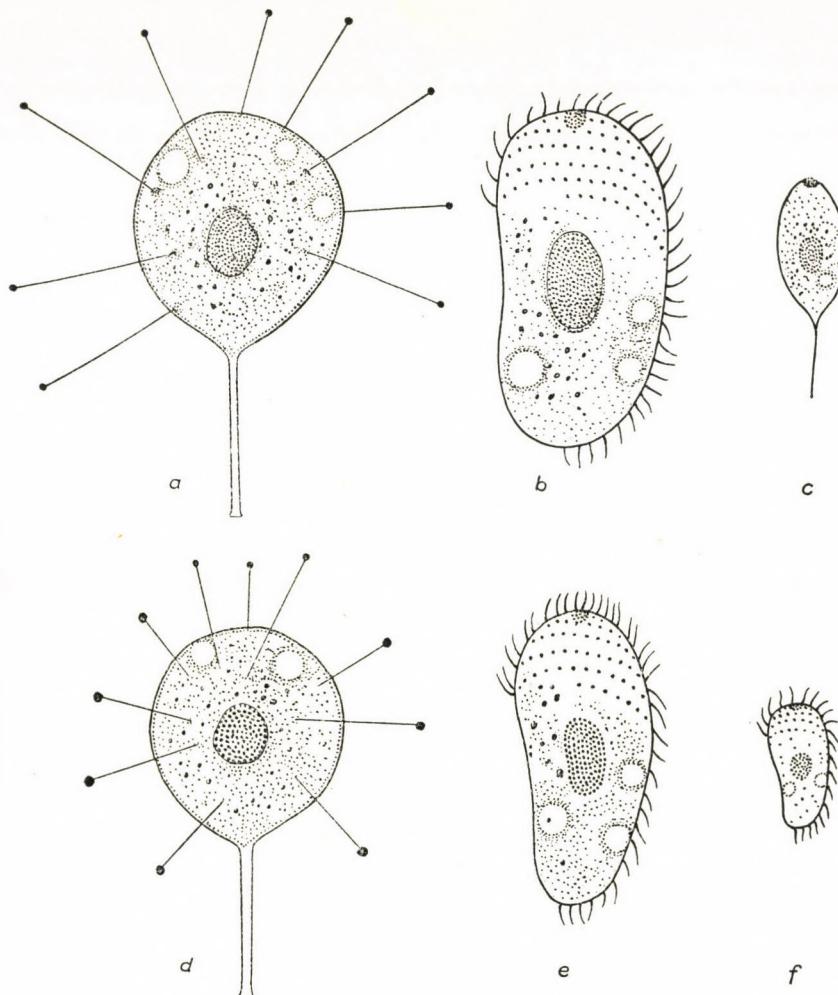


Abb. 2. *Prodiscophrya collini* mit unbewimpertem Mikrokonjuganten (a—c) und *Prodiscophrya* mit bewimpertem Mikrokonjuganten (d—f). Das entwickelte Exemplar (a, d), ihr vegetativer Schwärmer (b, e) und Mikrokonjugant (c, f).  $500 \times$

konjuganten in derselben Population  $14 \times 25 \mu$ . Unter gleichen Bedingungen erreicht der obere Grenzwert der Körpergrösse der Mikrokonjuganten niemals die unteren Grenzwerte der vegetativen Schwärmer. Die Schwärmer sind durchschnittlich mindestens zweimal so gross, übertreffen dementsprechend im Kör-

pergewicht mehrfach die männlichen Konjuganten. Bei der neuen *Prodiscophrya*-Art finden wir dieselben Größenverhältnisse wie bei der *Pr. collini*. Auch hier ist der vegetative Schwärmer wenigstens zweimal grösser als der geschlechtliche. (z. B. der vegetative Schwärmer  $25 \times 65 \mu$ , der geschlechtliche Schwärmer  $10 \times 20 \mu$ ).

3. Unsere Untersuchungen beweisen, dass die kleinen bewimperten Schwärmer, ähnlich wie die unbewimperten, die Aufgabe der Mikrokonjuganten erfüllen können. In dieser Hinsicht war es schwer zu einer entsprechenden Erkenntnis zu gelangen. In den ersten Populationen wurde — so zahlreich auch

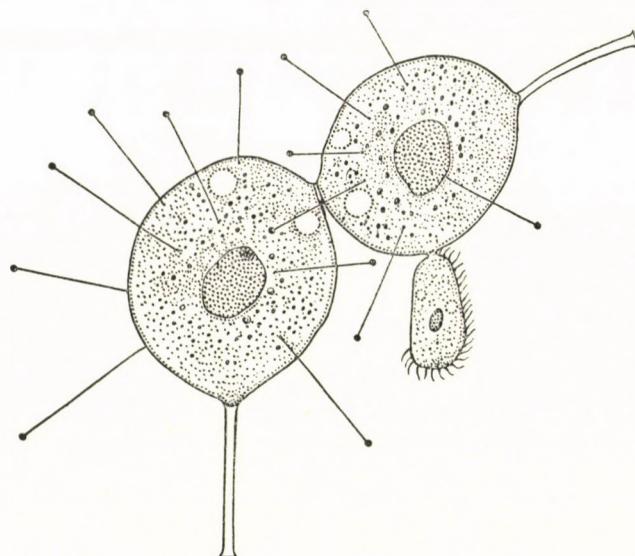


Abb. 3. Der vom Muttertier nicht getrennte Schwärmer entwickelte nach der Umwandlung einen Mikrokonjuganten.  $500 \times$

die kleinen Schwärmer waren — weder das Eindringen in den Körper des Makrokonjuganten beobachtet, noch innerhalb desselben der Mikrokonjugant festgestellt. Dennoch beweisen die an Klonen durchgeföhrten Beobachtungen, dass die kleinen Schwärmer fähig sind, die Aufgabe der Mikrokonjuganten zu übernehmen.

Der Geschlechtsunterschied zwischen dem Makro- und Mikrokonjuganten zeigt in der neuen *Prodiscophrya*-Art zwar einen anderen Charakter, ist aber genau so auffallend wie bei der *Pr. collini*. Der Makrokonjugant ist den vegetativen Tieren vollkommen ähnlich. Ein gewisser relativer Unterschied kann darin festgestellt werden, dass das Protoplasma der Makrokonjuganten gewöhnlich dunkler ist und mehr Nahrungskörnchen enthält als die Tiere, die die Mikrokonjuganten bilden. Die kleinen Schwärmer haben stets ein durch-

scheinendes Plasma, selbst auch dann, wenn das Muttertier mit Nahrungs-körnchen prall voll ist.

Diesbezüglich kann keine bestimmte Regelmässigkeit festgestellt werden, mit der wievielen Zellteilung — nach Einstellung der Fütterung — die Bildung der kleinen Schwärmer beginnt. Dies ist teilweise ganz natürlich, da die vegetativen Individuen bei der Einstellung der Nahrungszufuhr verschiedenen Alters sind und verschiedene Grade der Entwicklung aufweisen. An isolierten Individuen kann die Reihenfolge in der Entstehung der grossen und kleinen Schwärmer gut beobachtet werden. Auch ohne Isolierung wird dies oftmals durch jene Beispiele deutlich veranschaulicht, in denen sich die Schwärmer von den Eltern nicht trennen, sondern die pellikuläre, manchmal sogar auch die protoplasmatische Verbindung beibehaltend, neue Schwärmer entwickeln. Abb. 3 zeigt, dass sich der erste Schwärmer, die Verbindung mit dem Muttertier bewahrend, verwandelte und einen Stiel bildete. Aus diesem ersten Nachkommen entwickelt sich bereits ein kleiner Schwärmer. Solche Beispiele können oft beobachtet werden und zeigen, dass die Mikrokonjuganten in erster Reihe aus den Nachkommen der vegetativen Individuen entstehen, während sich die vegetativen Individuen auch unmittelbar in Makrokonjuganten verwandeln können. So ist es zu verstehen, dass die den kleinen Schwärmer entwickelnden Tiere meistens ein besser durchscheinendes Plasma haben als die Makrokonjuganten selbst. Oftmals entwickelt nicht der zweite, sondern der dritte oder vierte Nachkomme die kleinen Schwärmer.

Das in Abb. 3 gezeigte Beispiel ist sehr häufig. Oftmals finden wir gruppenweise solche Tiere, an deren oberem Teil, meistens ein wenig seitlich, grosse oder kleine, kugel- oder birnenförmige Organismen hervortreten. Wären uns die einzelnen Phasen der Embryoentwicklung nicht bekannt, könnte man an eine äussere Knospenbildung denken, doch noch viel eher könnte man diese abnormen Bildungen und die zurückgebliebenen Nachkommen als Parasiten betrachten. Ohne Kenntnis ihres Entstehens gleichen sie — besonders wenn sie mit der breiten Protoplasmabrücke in Verbindung blieben — den im ausgebildeten Zustand sich paarenden Sukturien.

Die ohne Trennung vor sich gehende Verwandlung der Schwärmer kann nicht ausschliesslich als eine Folge der Überernährung betrachtet werden. Verbunden mit den Elterntieren, die ein durchscheinendes Plasma haben, können die vegetativen Schwärmer ebenso bestehen wie die Mikrokonjuganten.

Bei der neuen *Prodiscophrya*-Art mit bewimpertem Mikrokonjuganten besteht die sich vererbende Neigung, dass der Schwärmer häufig mit dem Körper des Muttertiers in Verbindung bleibt. Diese Anomalie, die bisher in allen Klonkulturen beobachtet werden konnte, kann auch bei 5—30% der Nachkommenschaft auftreten.

Die kleinen Schwärmer entwickeln sich genau so mit Invagination wie die die vegetative Vermehrung sichernden Schwärmer. Die Einzelheiten der

invaginativen Schwärmerbildung stimmen im wesentlichen auch hier mit der Schwärmerbildung der *Prodiscophrya collini* überein [13, 14]. In der Entwicklung der bewimperten und unbewimperten Mikrokonjuganten bedeutet nur das Vorkommen oder das Fehlen der Ziliatur einen Unterschied, in dem schlauchartigen Einwachsen des Ektoplasmas besteht kein Unterschied.

Die Art und Weise, wie der fertige Embryoschlauch ins Freie gelangt ist auch hier der Austülpung des eingestülpten Handschuhfingers ähnlich. Die Trennung der kleinen Schwärmer stimmt mit der der grossen überein, doch unterscheidet sie sich von der der zilienlosen Mikrokonjuganten [13],



Abb. 4. Die innere Konjugation der *Prodiscophrya collini* im Zustand vor der Vereinigung der sexuellen Pronuklei. In beiden Konjuganten ist nur je ein Vorkern zu sehen, da die anderen zwei tiefer liegen. Nuklealfärbung. 500×

weil nach der schnellen Trennung am hinteren Teil des Schwärmers keine Pelliukulafäden zurückbleiben.

Um die Ursache des geschlechtlichen Dimorphismus der Schwärmer zu erforschen, untersuchten wir, indem wir auch an die örtliche determinierende Wirkung des Körpers des Muttertiers dachten, ob der zilienlose Mikrokonjugant der *Pr. collini* auf einer anderen Region des Muttertiers entsteht als der bewimperte Schwärmer. Es ist leicht vorstellbar, dass einzelne Körperregionen des entwickelten Tieres zur Ausbildung von bewimperten Nachkommen, andere hingegen nur zu einer solchen von unbewimperten, vielleicht sogar von Nachkommen ohne Basalkörperchen fähig sind.

Unsere Untersuchungen bewiesen jedoch, dass sowohl der mit Zilien versehene als auch der zilienlose Schwärmer von einer ähnlichen Körperregion stammen. Von einem determinierten biologischen Unterschied der Invaginationsstelle kann also nicht die Rede sein. Auf dem zilienlosen Mikrokonjuganten ist nur die Ausbildung der Zilien verhindert. Die Basalkörperchen entstehen und ordnen sich in Reihen an (Abb. 5). Diese Hemmung ist nur mit einer Geschlechtsgeneration verbunden, ein auch deshalb merkwürdiger Umstand, weil die Geschlechtsbestimmung phenotypisch ist. Die Hemmung ist von vor-

übergehender Art, da auch die zilienlosen Schwärmer fähig sind, sich in Tiere mit Saugtentakeln zu verwandeln. Die letzteren entwickeln neuerdings, obwohl sie bereits der dritten zilienlosen Generation entsprechen, im Falle einer befriedigenden Ernährung, mit Zilien versehene Schwärmer. Offenbar ist es gerade die physiologische Veränderung der Geschlechtsdifferenzierung, die hemmend wirkt, doch nur bei der *Pr. collini*, denn bei einer anderen Art, die wir unter dem Namen *Pr. endogama* in einer folgenden Arbeit ausführlicher beschreiben werden, ist auch der Mikrokonjugant mit Zilien versehen. Nur mit Hilfe einer erfolgreichen Kreuzung der beiden Arten kann festgestellt werden, ob die Zellkerne bei der Bestimmung des Dimorphismus der Schwärmer und Konjuganten eine Rolle spielen.

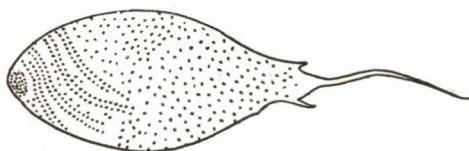


Abb. 5. Zilienloser Mikrokonjugant vom *Prodiscophrya collini*. Versilberung nach KLEIN. Die Körnchenreihen zeigen Zilien nicht entwickelnde Basalkörperchen. 1000×

Bei den Prodiscophyren entwickelt dasselbe Muttertier, dem jeweiligen physiologischen Zustand entsprechend, bewimperte und unbewimperte Schwärmer. Vielleicht ist dies der Grund, weshalb es nicht möglich ist eine Relation zwischen dem Dimorphismus und der Bildungsstelle der Schwärmer zu finden. Es würde sich lohnen, diese Möglichkeit an einem anderen Beispiel, bei dem marinem *Tachyblaston ephelotensis*, zu untersuchen. Hier ist nämlich sowohl die mit Zilien versehene als auch die zilienlose Generation geschlechtslos, doch aus der Beschreibung von GRELL [7] kann darauf gefolgert werden, dass sich die bewimperten Schwärmer aus der zur Schwärmerzeit mit Zilien versehenen Region des Muttertiers, die zilienlosen hingegen aus dem entgegengesetzten Teil des Muttertiers entwickeln, was eine Folge der jeweils anders angeordneten Anhaftung der Eltern ist.

### Die Konjugation

Den Beginn der Konjugation, die ersten Momente der Vereinigung der Mikro- und Makrokonjuganten, konnten wir nicht beobachten. Ebendeshalb waren wir lange Zeit der Ansicht, dass die kleinen Schwärmer, obwohl homolog, mit den Mikrokonjuganten nicht identisch sind, sondern die männlichen Tiere, ähnlich wie bei der *Pr. collini*, auch hier unbewimpert sind. Zilienlose Schwär-

mer traten jedoch — während der Beobachtung von zahlreichen Klonkulturen — kein einziges Mal in Erscheinung. Gegen eine solche Rolle des Schwärmer spricht auch unsere Erfahrung, wonach in allen Fällen, in grosser Entfernung von der übrigen isolierte „Paare“ beobachtet werden konnten, deren Vereinigung, mit Hilfe eines zilienlosen Mikrokonjuganten, gerade wegen der grossen Entfernung, unmöglich war. Ein zilienloser Mikrokonjugant ist jeder Bewegung unfähig, kann nur in der unmittelbaren Nähe seines Entstehens mit dem Makrokonjuganten in Berührung kommen. Zu einem für sich allein entfernt gelagerten Makrokonjuganten kann der Mikrokonjugant nur in der Form eines bewimperten Schwärmer gelangen.

Wir nahmen Versuche vor, um festzustellen, ob der grosse sexuelle Unterschied mit einer chemotaktischen Wirkung zwischen den sich sehr lebhaft bewegenden Schwärfern und dem unbeweglichen Makrokonjuganten verbunden ist. Nach den bisherigen Untersuchungen ist das Resultat mehr als zweifelhaft. Die Schwärmer sammeln sich nicht um den Körper der sessilen Tiere. Sie bewegen sich ziellos in der Kulturflüssigkeit. Wenn auch manchmal auf den gestielten Tieren, aus deren Reihen die Makrokonjuganten stammen, mehrere zu beobachten sind, übertrifft ihre Anzahl kaum die Verhältniszahl der im Wasser frei schwimmenden Schwärmer. Der Unterschied kann höchstens als eine thigmotaktische Wirkung gewertet werden. FINLEY beobachtete bei den Peritrichen eine chemotaktische Anziehung [5].

Die Anfangsphasen in der Konjugation der *Pr. collini* können in jeder Variante leicht beobachtet werden. Obwohl wir die Einzelheiten des Eindringens des bewimperten Mikrokonjuganten noch nicht beobachteten, ist es sicher, dass sich dieser Vorgang nicht wesentlich von dem des unbewimperten unterscheidet. Nach Eindringen runden er sich ebenso ab, wie der unbewimperte und die Konjugationsveränderungen der Zellkerne stimmen, soweit wir bisher beobachten konnten, in allen Einzelheiten überein. Nach der Vereinigung der Mikronuklei desorganisiert sich der Mikrokonjugant und wird — zu einer einzigen Nahrungsvakuole geworden — in seiner Gänze vom Körper des Makrokonjuganten resorbiert. Die Untersuchungen bezüglich der Veränderungen der Zellkerne sind noch nicht beendet. Die bisher beobachteten Einzelheiten sind denen der *Pr. collini* ähnlich. Es sei hier neuerlich auf einen der bezeichnendsten Teile in der Konjugation der *Pr. collini* hingewiesen. Die sexuellen Vorkerne vereinigen sich bei dem Ektoplasma des Mikrokonjuganten und die beiden aus der Vereinigung stammenden Synkarione gelangen in das Plasma des Makrokonjuganten.

Die Abb. 4 zeigt die sexuellen Kerne vor der Vereinigung. Hier ist nur je ein sexueller Pronukleus zu sehen, da die anderen tiefer gelagert sind. Nach der Entwicklung der Synkarione teilen sich beide Kerne auf einmal. Von den so entstandenen vier Kernen verwandelt sich einer in einen Makronukleus, drei hingegen vermehren sich als Mikronuklei durch weitere Teilungen. Im Ver-

halten der Chromatin-Körnchen stimmt die Entwicklung des Grosskerns mit der der *Pr. collini* überein. Die erste Beschreibung kann mit einer neuen Angabe ergänzt werden. In der Entwicklung der Plazenta kann nämlich auch hier das Stadium festgestellt werden, das von GRELL [7, 8, 9] bei der *Ephelota* beobachtet wurde und das durch die zweifache oder höhere polyploide Erscheinung, endomitotische Vermehrung der im Kernraum verteilten »Chromosomen« charakterisiert wird.

### Die Frage der Paarungstypen (mating types) bei den *Prodiscophryen*

Diese Frage bedeutet gleichzeitig auch, ob sich die Konjugation innerhalb der Klonkulturen oder nur zwischen gewissen Klonen verwirklicht. Schon im Jahre 1935 wurde diese Frage bei der *Pr. collini* untersucht. Nach dem Ergebnis gelang uns innerhalb des Klons in allen Fällen eine Konjugation auszulösen, sei das Ausgangsindividuum des Klons der zilienlose Mikrokonjugant, oder das die Mikrokonjuganten erzeugende Muttertier oder der Makrokonjugant. Zum selben Resultat gelangten wir bei der Untersuchung der Klone der neuen *Prodiscophrya*-Art. In allen Fällen erfolgte die Konjugation mit Sicherheit innerhalb des Klons. Die bewimperten Mikrokonjuganten verhalten sich ähnlich wie die unbewimperten. Alle Mikrokonjuganten, die an der Konjugation nicht teilnehmen — bei 20—22° C entwickeln sich die kleinen Schwärmer in sehr grosser Anzahl, aber 95% und noch mehr sind an der Konjugation nicht beteiligt — runden sich ab, ohne einen Stiel zu bilden. Nach der Abrundung entwickeln viele von ihnen 1—2 Tentakel. Mit kleinen Holotrichen gefüttert (z. B. *Glaucoma*) wachsen sie langsam und vermehren sich mit vegetativen Schwärzern, um schliesslich, nach Erzeugung der Geschlechtsformen, zu konjugieren.

Wir versuchten, bisher jedoch erfolglos, zwischen den beiden *Prodiscophryen* — der *Pr. collini* mit unbewimpertem männlichem Konjuganten und der neuen *Prodiscophrya*-Art mit bewimpertem Konjuganten — eine Paarung auszulösen. Die Versuche wurden vorläufig nur in einer Richtung durchgeführt. Die *Pr. collini* wurde als Makrokonjugant verwendet und zwar so, dass wir die gestielten Individuen, um das Eindringen des eigenen zilienlosen männlichen Konjuganten zu verhindern, nur sporadisch, in entsprechender Entfernung voneinander beliessen. In das derartig vorbereitete Gefäss wurden mehrere Tage lang bewimperte männliche Konjuganten reichlich gelegt. Diese zeigten sich im Vergleich zu ihrem Klon verhältnismässig häufiger auf der Körperoberfläche der mit Tentakeln versehenen Individuen der *Pr. collini*, manchmal blieben sie auch daran haften, aber ein Eindringen wurde bisher nicht beobachtet. Sie rundeten sich ab, ohne das Eindringen versucht zu haben.

### Einige allgemeine Fragen der Konjugation

#### *Ursprung des Geschlechtsdimorphismus und der inneren Konjugation bei den Prodiscophryen*

In allen verlässlich bekannten Fällen, gleichgültig ob die Paarung der Suktiorien eine partielle (die Konjuganten trennen sich später) oder eine vollständige (die Konjuganten vereinigen sich endgültig) gewesen, wurde zwischen den Paarungspartnern ausser dem Größenunterschied kein anderer Unterschied festgestellt. COLLIN [2] dachte bei der Beschreibung der Konjugation der *Ephelota gemmipara* an die Möglichkeit, dass der Mikrokonjugant als frei schwimmender Schwärmer den Makrokonjuganten aufsucht. Demgegenüber stellte jedoch GRELL [9] fest, dass es sich bei beiden Paarungspartnern um gestielte entwickelte Tiere handelt und der Mikrokonjugant sich bei der Paarung von dem Stiel loslässt. GÖNNERT [6] erwägt im Zusammenhang mit der Konjugation der *Dendrosoma radians* denselben Gedanken, ohne ihn glaubhaft machen zu können. Nach unseren eigenen Beobachtungen konjugiert auch die *Trichophrya epistylidis* in entwickeltem Zustand. Allerdings gehört diese Art zu den einfachsten Dendrosomiden.

Die Podophryen, die nach den Parapodophryen die einfachsten Suktiorien darstellen, konjugieren ebenfalls in entwickeltem Zustand und zwar so, dass sich die Paare nachher voneinander trennen. Die Prodiscophryen sind auf Grund der Konstitution des entwickelten Tieres die primitivsten Discophryden. Diesbezüglich ist jedoch nicht die geringste Spur zu finden, dass in der Familie der Discophryiden eine andere Paarungsweise als die Konjugation der entwickelten Tiere vorkommen würde. COLLIN untersuchte ziemlich viele Einzelheiten in der Konjugation der *Discophrya elongata*. Seiner Ansicht nach konjugieren bei dieser Art nur entwickelte Individuen. Bei der *D. astaci* konnten auch wir in einem Fall die Paarung von entwickelten Individuen beobachten. Bezuglich der Paarung der übrigen Discophryiden stehen uns keine Angaben zur Verfügung, doch gehören die beiden erwähnten Arten nach den Prodiscophryen zu den einfachsten. Demnach zeigen, wie aus den noch lückenhaften Angaben hervorgeht, selbst die nächsten verwandten Arten keinen Übergang zu dem Geschlechtsdimorphismus der Prodiscophryen. Solange uns nur die Konjugation der *Pr. collini* bekannt war, konnte daran gedacht werden, dass die Zilienlosigkeit des Mikrokonjuganten von der Konjugation der entwickelten (zilienlosen) Tiere abgeleitet werden kann. Die *Prodiscophrya* mit bewimpertem Konjuganten beweist jedoch, dass die Geschlechtsrolle der Schwärmer hier nicht sekundärer, sondern primärer Art ist. Der unbewimperte Mikrokonjugant stammt zweifellos vom bewimperten ab. Das wird nicht nur durch die Anwesenheit der Skopula bewiesen, sondern vor allem durch unsere Feststellung, wonach die Basalkörperchen der Zilien mit Versilberung auch auf dem zilienlosen Tier nachgewiesen werden können (Abb. 5). Hinter der Skopula

befinden sich 4—6 Doppelreihen von Basalkörperchen, in derselben Reihenfolge wie bei dem Schwärmer mit Zilienskleid. Der Hauptunterschied zwischen beiden besteht darin, dass die zilienlosen Basalkörperchen nicht in so langen Reihen auseinander wandern wie die mit Zilien versehenen. Das ist aus dem Gang der Entwicklung zu verstehen, denn die Ziliatur erscheint bereits am Anfang der Entstehung des Embryoschlauches, während sich die Basalkörperchen und die Körnchenreihen gleichzeitig mit dem Wachstum der Zilien immer mehr entfernen. Wahrscheinlich ist es gerade die Entfaltung des Rhythmus in der Zilienbewegung, die die endgültige Anordnung der Basalkörperchen und der Zilienreihen bestimmt. Hier entwickeln sich keine Zilien, weshalb es zu keinem vollständigen Auseinanderwandern der Basalkörperchen und der Reihen kommt. Das Abnehmen der Körpergrösse und der Ziliatur zeigt den Weg der phylogenetischen Differenzierung des unbewimperten Mikrokonjuganten der *Pr. collini*. Die Stationen dieses Weges sind: bewimperter grosser vegetativer Schwärmer, kleiner bewimperter Schwärmer (Mikrokonjugant), kleiner unbewimperter Schwärmer (Mikrokonjugant). Der extreme Geschlechtsunterschied stammt also nicht sekundär, aus der isogamen Konjugation der entwickelten Tiere, sondern primär, von den auf die bewimperten Ahnen der Suktoren weisenden Schwärmern.

Der zilienlose Mikrokonjugant ist z. B. ein eigenartiger Gegensatz zu dem Geschlechtsschwärmer der *Chlamydomonas*. Nach den Untersuchungen von MOEWUS entwickelt die unbegeisselte *Chlamydomonas* unter Einwirkung eines bestimmten Faktors ihre Geissel und verwandelt sich in einen begeisselten Schwärmer. Die Geschlechtsdifferenzierung erfolgt nur danach. Bei der *Pr. collini* geht die Zilienentwicklung nicht der Geschlechtsdifferenzierung voran. Die Zilienlosigkeit ist vermutlich die Folge einer Mutation von der nur der Geschlechtsschwärmer betroffen wird.

Der zwischen den beiden *Prodiscophryen* bestehende Unterschied ist mehr als eine einfache Mutation, denn die beiden Arten weichen auch in den von der Geschlechtsform unabhängigen Eigenschaften voneinander ab. Abb. 2 veranschaulicht die relativen Unterschiede des Stiels der Körpermasse, sowie die Unterschiede in den Massen und in der Form der vegetativen Schwärmer. Mit diesen Unterschieden beschäftigen wir uns an anderer Stelle eingehender. Hier sei nur noch soviel erwähnt, dass der vegetative Schwärmer der neuen *Prodiscophrya*-Art zur Missbildung neigt und sich oftmals vom Körper des Muttertiers nicht trennt. Die entwickelten Tiere unterscheiden sich auch in der Ernährung bzw. in der Auswahl der Nahrung. Das eine (*Pr. collini*) nährt sich gleichermassen von *Paramecium* und kleinen Holotrichen, das andere hingegen ist nicht fähig das *Paramecium* dauernd festzuhalten, weshalb sein Verbreitungsgebiet enger ist. Bisher konnten wir das Tier nur einmal im Cserepes-sor-Graben einsammeln. Es wird mit kleinen Holotrichen noch jetzt in der Kultur gefüttert.

Der Unterschied zwischen den beiden Prodiscophryen entspricht reichlich dem Artunterschied. Die differenzierenden Merkmale sind nicht eng mit den Merkmalen des Mikrokonjuganten verbunden. So z. B. variiert die Länge des Stiels völlig unabhängig, denn es wurde bereits auch eine ganz stiellose *Pr. collini* gefunden. Der Dimorphismus der Schwärmer lenkt die Aufmerksamkeit auf zwei eigenartige Tiergruppen. Die eine ist das *Tachyblaston ephelotensis*. Bei dieser ist der Dimorphismus zweifellos mit keiner Geschlechtsgeneration verbunden. Es ist noch ungewiss, ob sich am zilienlosen Schwärmer Basalkörperchen entwickeln. Im Zusammenhang mit den zilienlosen vermiformen Individuen der Ophryodendriden wurde bereits — ohne tatsächliche Beobachtung — ein Geschlechtsdimorphismus angenommen, was jedoch bis heute noch keine Bestätigung fand. Nach GUILCHER [12] stellt das vermiforme Individuum die einzige Vermehrungsform der Ophryodendriden dar. Nach der Beschreibung des Forschers können diese sich spannend fortbewegenden Formen mit dem unbewimperten Mikrokonjuganten der *Pr. collini* nicht homologisiert werden.

Zu der inneren oogamieähnlichen Konjugation ist uns weder eine ähnliche noch eine Übergangerscheinung bekannt. Als Erklärung dient die gezeigte Ähnlichkeit mit dem Parasitismus. Auch die parasitären Suktoren dringen im Schwärmerzustand in das Wirtstier ein. So ist z. B. das Eindringen der *Endosphaera engelmanni* dem Verhalten der Mikrokonjuganten täuschend ähnlich. Beide dringen mit der Skopula-Region, mit dem vorderen Ende ein. Der interessante Funktionswechsel der Skopula begünstigt das Eindringen. Bei den gestielten Tieren produziert die Skopula des Schwärmers das den Stiel aufbauende Material und lässt den Stiel wachsen. Bei den Parasiten sichert die Skopula die Auflösung der Pellikula und im Interesse des Parasitismus das Eindringen. Im Mikrokonjuganten verfügt die Skopula über dieselbe Fähigkeit und fördert das Eindringen in das weibliche Tier. Es konnte noch nicht festgestellt werden, ob der Mikrokonjugant bis zum Zeitpunkt der Vereinigung der Geschlechtskerne vom Makrokonjuganten — natürlich im Diffusionswege — Nahrung erhält, soviel ist jedoch sicher, dass der Mikrokonjugant nicht unbedingt darauf angewiesen ist. Auch die anisogame »äussere« Konjugation geht ohne Nahrungs- aufnahme vor sich.

### Die Frage des Geschlechtsunterschiedes

Seit der Entdeckung der Paarungstypen (mating types) sind die meisten Forscher darauf sehr bedacht, die in der Konjugation teilnehmenden Individuen nicht als geschlechtlich entgegengesetzte zu bezeichnen und als Erklärung für die Konjugation, nicht einen Geschlechtsunterschied anzuführen. Es hemmt sie in ihrem Urteil vor allem das Verhalten der beiden sexuellen Pronuklei, weil nicht nur in der isogamen, sondern im überwiegenden Teil auch in der ani-

sogamen Konjugation einer der Kerne zur Vereinigung hinüberwandert, während der andere an Ort und Stelle bleibt. In gewissen Fällen ist zwischen den beiden Vorkernen auch der Form nach ein Unterschied festzustellen [4]. Deshalb werden die Infusorien als Hermaphroditen erwähnt, selbst auch dann, wenn, wie z. B. bei den Vorticelliden, die Konjugation mit wesentlichem Unterschied anisogamer Art ist. Von der *Pr. collini* wissen wir jedoch bereits, dass sich die geschlechtlichen Vorkerne der Konjuganten bei dem Ektoplasma des Mikrokonjuganten treffen und beide Synkarione nach der Vereinigung in den Makrokonjuganten gelangen [13]. Hier besteht also zwischen den Vorkernen kein Unterschied und die Konjuganten können, trotz ihres diploiden Zustandes, physiologisch mit vollem Recht als geschlechtlich differenzierte Individuen betrachtet werden. Die bisherigen Untersuchungen lassen bei der neuen *Prodiscophrya*-Art ein ähnliches Verhalten erkennen. GRELL [9] beobachtete bei der *Ephelota* nur je einen geschlechtlichen Vorkern und ein Synkarion, doch zog er aus seinen Beobachtungen keinerlei Folgerungen. Hingegen weicht SCHWARTZ [17] in seinem Referat über die Sexualität der Infusorien von der üblichen und heute am entschiedensten von HARTMANN [12] verfochtenen Ansicht ab: er ist geneigt den einen der konjugierenden Partner als weiblich, den anderen als männlich zu betrachten und beurteilt das Verhalten der Geschlechtskerne als nicht unvereinbar mit dieser Auffassung. Leider sind die geschlechtlichen Wirkstoffe der Infusorien unbekannt, weshalb es sehr schwierig wäre, eine Parallelie zwischen den Exemplaren der *Chlamydomonas* und den Geschlechtszellen der Metazoen zu ziehen. Dafür ist jedoch kein Grund vorhanden, dass die Forscher, wenn sie unter Berücksichtigung des zufälligen äusseren morphologischen Unterschiedes der Geschlechtsvorkerne, auch auf einen Geschlechtsunterschied folgern, gleichzeitig den weit wesentlicheren konstitutionellen und physiologischen Unterschied der konjugierenden Tiere selbst, nicht ebenfalls als Geschlechtsunterschied betrachten. Bezüglich der isogamen Konjugation vertreten wir dieselbe Ansicht. Die Paarungstypen (mating types) bedeuten unbedingt einen Geschlechtsunterschied. Wo keine Paarungstypen (mating types) sind, dort geht auch der isogamen Konjugation eine diplophenotypische Geschlechtsbestimmung voran. Dort, wo Paarungstypen vorhanden sind, gestatten, genetisch wohl bestimmte, doch im Wesen noch unbekannte hemmende Faktoren, die diplophenotypische Bestimmung ausschliesslich oder überwiegend nur in der Richtung des einen oder des anderen Geschlechts zur Geltung zu kommen.

#### *Die Bildung der Chromatinkörnchen im Makronukleus*

In Zusammenfassung der mitgeteilten Beobachtungen, wonach die bei der *Ephelota* [7, 8, 9] beschriebenen Chromosomen auch in der *Prodiscophrya* vorhanden sind, haben wir noch folgendes zu bemerken. Noch bevor PIEKARSKI

[15] und GRELL [7, 8, 9] — auf Grund der Abhandlung GEITLERS über die Endomitose — die Frage der endopolyploiden Natur des Grosskerns und dementsprechend die der unmittelbaren Abstammung der Chromatinkörnchen des Grosskerns aus denen des Kleinkerns aufwarfen bzw. bestätigten, wurde von einem der Verfasser der vorliegenden Arbeit, im Jahre 1935, bereits auf diesen Umstand hingewiesen. Damals widersprach diese Ansicht der allgemein verbreiteten Auffassung, denn selbst die Autoren, die im Grosskern — bevor dieser den desoxyribonukleinsäurelosen Interphasenzustand erreichte — Chromosomen festgestellt hatten [2, 13, 16], berichteten von einer von dem Kleinkern völlig unabhängigen Neubildung der Chromatinkörnchen des Grosskerns. Sie waren bestrebt, auch auf diesem Wege zu beweisen, dass sich das Chromatin des Grosskerns (»strophochromatin«) auch schon in seiner Bildung von dem des Kleinkerns (»generative chromatin«) unterscheidet. Es sei bemerkt, dass z. B. die Theorie von REICHENOW [4] auch heute noch gegen eine Ableitung der Makronukleus-Körnchen aus denen des Mikronukleus spricht. Ähnlicher Ansicht ist auch GÖNNERT [6], der die Auffassung vertritt, dass sich die Chromatinkörnchen in den »Binnenkörperchen« bilden würden. Die Beschreibung basiert offenbar auf einer irrtümlichen Deutung der mikroskopischen Beobachtungen und kann auf keine Weise mit der Endopolyploidie in Einklang gebracht werden.

Auf der Abb. 12 des zitierten Artikels [13] kann zwischen den Zeichnungen »e« und »f« jenes Stadium eingefügt werden, in dem sich die Chromosomen mit Bestimmtheit zeigten. In Form und Grösse lassen sie einen wesentlichen Unterschied erkennen. Ihre Anzahl konnte noch nicht genau festgestellt werden. Die Chromatiden verteilen sich häufig schnell im Kernraum und treten deshalb oftmals nicht in Erscheinung. Die zum Teil einem optischen Schnitt entsprechenden Zeichnungen der Abb. 12 zeigen deutlich, dass die Abstammung des Chromatins im Grosskern aus dem des Kleinkerns schon im Jahre 1935 erwiesen war. Über unsere weiteren Untersuchungen bezüglich der Zellkerne werden wir später berichten.

#### LITERATUR

1. BÜTSCHLI, O. (1889) Protozoa. In BRONN *Klassen und Ordnungen des Tierreichs*. 3.
2. COLLIN, B. (1912) Étude monographique sur les Acinétiens. II. *Arch. zool. exp. gén.*, **51**, 1—457.
3. DEVIDÉ, Z., GEITLER, L. (1947) Die Chromosomen der Ciliaten. *Chromosoma*, **3**, 110—136.
4. DOFLEIN, F., REICHENOW, E. (1949—1953) Lehrbuch der Protozoenkunde. Fischer, Jena.
5. FINLEY, H. E. (1952) Sexual differentiation in Peritrichous Ciliates. *J. Morph.*, **91**, 569—598.
6. GÖNNERT, R. (1935) Ueber Systematik, Morphologie, Entwicklungsgeschichte und Parasiten einiger Dendrosomidae nebst Beschreibung zweier neuer Sukturien. *Arch. Protistenkde.*, **86**, 113—154.
7. GRELL, K. G. (1950) Der Kerndualismus der Ciliaten und Sukturien. *Naturwiss.*, **37**, 347—356.
8. GRELL, K. G. (1952) Der Stand unserer Kenntnisse über den Bau der Protistenkerne. *Verh. Deutsch. Zool. Ges. Freiburg*, 212—251.

9. GRELL, K. G. (1953) Die Konjugation von *Ephelota gemmipora* R. HERTWIG. *Arch. Protistenkde*, **98**, 287—326.
10. GRELL, K. G. (1953) Der Generationswechsel des parasitischen Suktors *Tachyblaston ephelotensis* MARTIN. *Z. Parasitenkde*, **14**, 499—534.
11. GUILCHER, Y. (1951) Contribution à l'étude des Ciliés gemmipares. Chonotriches et Tentaculifères. *Ann. Sci. Nat., Zool.*, **13**, 33—132.
12. HARTMANN, M. (1953) Allgemeine Biologie. Fischer, Stuttgart.
13. KORMOS, J. (1935) A *Prodiscophrya collini* (Root) ivari kétalakúsága és conjugatioja. Sexueller Dimorphismus und Conjugation von *Prodiscophrya collini* (Root). *Allatt. Közl.*, **32**, 152—168. (Ungarisch, deutsche Zusammenfassung.)
14. KORMOS, J. (1938) Fejlődéstani vizsgálatok a Szívókásokon. Entwicklungsgeschichtliche Untersuchungen an Suktoren. *Mat. Term.-tud. Közl.*, **38** (1), 1—94. (Nur ungarisch.)
15. PIĘKARSKI, G. (1941) Endomitose beim Groszkern der Ciliaten? Versuch einer Synthese. *Biol. Zbl.*, **61**, 416—426.
16. POLJANSKY, G. (1953) Geschlechtsprozesse bei *Bursaria truncatella* O. F. MÜLL. *Arch. Protistenkde*, **81**, 420—546.
17. SCHWARTZ, V. (1952) Die Sexualität der Infusorien. *Fortschr. Zool.*, **9**, 605—619.
18. WICHTERMAN, R. (1953) The biology of *Paramecium*. Blakiston, New-York—Toronto.

### НОВЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПОЛОВОГО ДИМОРФИЗМЕ У PRODISCOPHYA

Авторам удалось обнаружить клоны *Prodiscophrya*, которые в противоположность микроконьюгантам без ресничек *Pr. collini*, совершенно неспособным к движению, разывают оживленно двигающихся микроконьюгантов, снабженных ресничками. От вегетативных бродяжек они отличаются лишь многократно меньшим размером тела. Макроконьюганты по своему телосложению совпадают с вегетативными особями.

Было установлено, что у микроконьюгантов без ресничек *Pr. collini* базальные зернышки ресничек развиваются организованно в коротких рядах.

При сопоставлении вегетативных бродяжек и двоякого рода половых бродяжек выявляется, что голые микроконьюганты *Pr. collini* происходят через ресничных микроконьюгантов от вегетативных бродяжек. Из этого следует, что половой диморфизм *Prodiscophrya* представляет собой не происходящее в результате коньюгации развитых особей изогамных *Suctoriae*, то есть вторичное, а первичное явление.

Развитие вегетативных и половых форм нового вида *Prodiscophrya* осуществляется посредством образования зародышей путем инвагинации точно так же, как и в случае *Pr. collini* и спаривание представляет собой тоже внутреннюю коньюгацию вроде оогамии. Проникновение микроконьюгантов в тело макроконьюгантов происходит подобно проникновению бродяжек паразитирующих *Suctoriae* и объясняется обменом функции скопулы.

Половые бродяжки обоих видов рода *Prodiscophrya* могут преобразоваться в вегетативные особи. Согласно опытам, проведенным с потомками микро- и макроконьюгантов, так же как и вегетативных особей, в обоих случаях наблюдается коньюгация внутри одного клона. *Prodiscophrya* не имеет типы спаривания.

Новые исследования также подтверждают, что на основании как значительной разницы размеров тела так и поведения половых предъядер микро- и макроконьюгантов, следует рассматривать не гермафродитами, а животными мужского и женского пола. (Этот вывод относится также и к изогамной коньюгации.)

### NEW INVESTIGATIONS ON THE SEXUAL D MORPHISM OF THE PRODISCOPHYA

*Prodiscophrya* clones were found which, in contrast with the microconjugants of the *Pr. collini*, unciliated and incapable of locomotion, develop vigorously motile ciliated microconjugants. These differ from the vegetative conjugants only in their many-times smaller size. The build of the macroconjugants is quite similar to that of the vegetative conjugants.

It was found that the naked microconjugants of the *Pr. collini* develop the basal granules of the cilia and that the granules are arranged in short rows.

A comparison of the vegetative conjugants with the two kinds of sexual conjugants substantiates the assumption that the unciliated microconjugants of the *Pr. collini* descend from the vegetative conjugants through the medium of the ciliated microconjugants. From this it

follows that the sexual dimorphism of the *Prodiscophrya* is a primary phenomenon and not one arising from the conjugation of the adult individuals of the isogamous Suctoria.

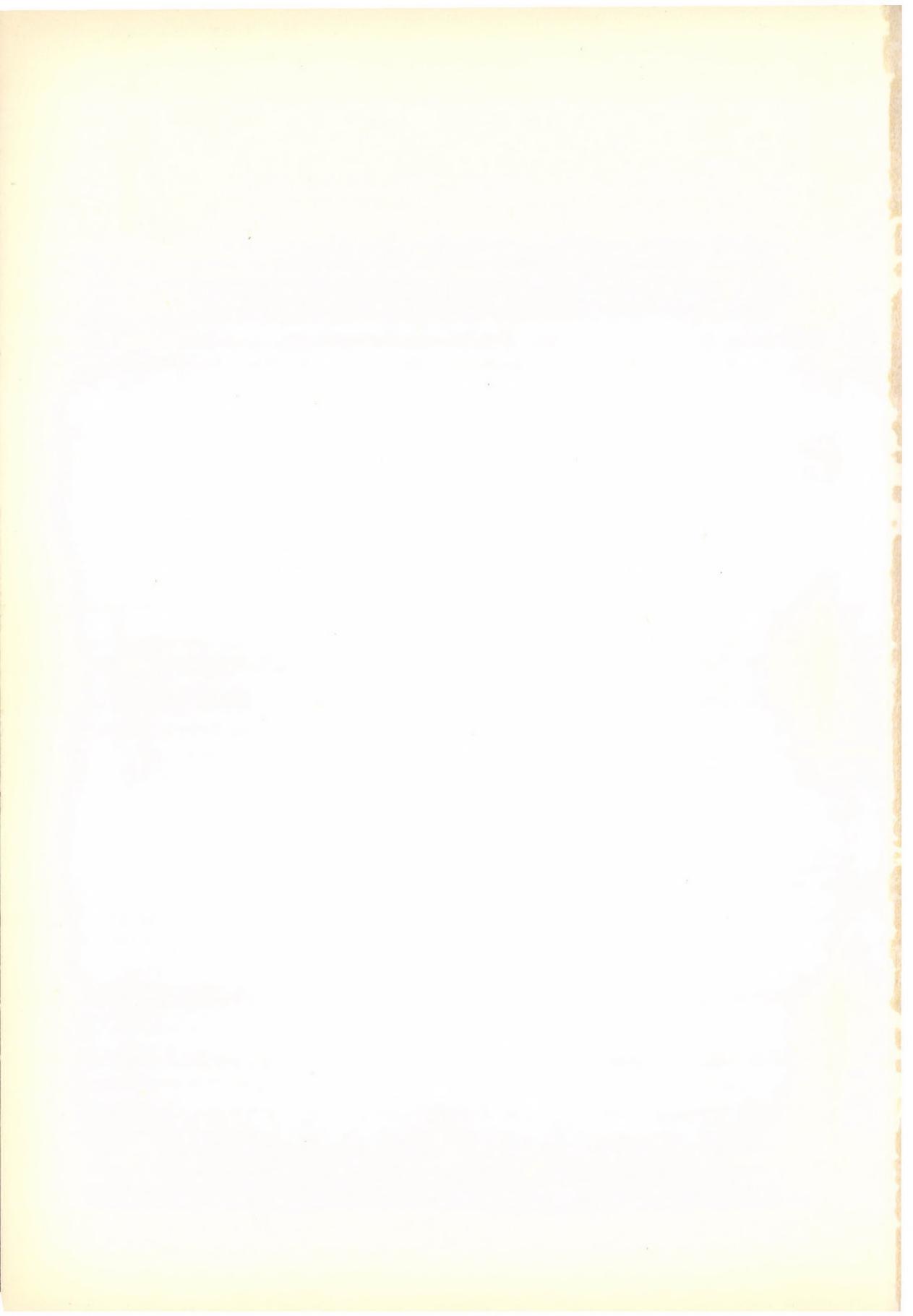
The process of invagination in the development of the vegetative and sexual forms of the new *Prodiscophrya* is the same as in the *Pr. collini*; the similarity extends also to the conjugation which is an oogamy-like internal process in both the old and new type. The microconjugants penetrate into the body of the macroconjugants in the same way as do the conjugants of parasitic Suctoria, the process of penetration being facilitated by a change in the function of the scopula.

The sexual conjugants of both types of *Prodiscophrya* may change into vegetative individuals. Experiments made with the descendants of micro, macro and vegetative conjugants have shown that intraclonal conjugation occurs in every case. The *Prodiscophrya* have no mating types.

It seems to be obvious from the investigations that, on the evidence of the considerable difference between the build of the micro and the macroconjugants and in view of the behaviour of the pronuclei, micro and macroconjugants should not be classed as hermaphrodites but regarded as male and female animals respectively. (This statement applies to isogamous conjugation also.)

JÓZSEF KORMOS, Szeged, Táncsics Mihály u. 2. Ungarn.

KATALIN KORMOS, Szeged, Táncsics Mihály u. 2. Ungarn.



Les *Acta Biologica* paraissent en russe, français, anglais et allemand et publient des travaux du domaine des sciences biologiques.

Les *Acta Biologica* sont publiés sous forme de fascicules qui seront réunis en un volume.

On est prié d'envoyer les manuscrits destinés à la rédaction et écrits à la machine à l'adresse suivante :

*Acta Biologica, Budapest, IX., Tűzoltó u. 58.*

Toute correspondance doit être envoyée à cette même adresse.

Le prix de l'abonnement est de 110 forints par volume.

On peut s'abonner à l'Entreprise pour le Commerce Extérieur de Livres et Journaux «*Kultura*» (Budapest, VI., Sztálin út 21. Compte-courant No. : 43-790-057-181) ou à l'étranger chez tous les représentants ou dépositaires.

---

The *Acta Biologica* publish papers on biological subjects in Russian, French, English and German.

The *Acta Biologica* appear in parts of varying size, making up one volume.

Manuscripts should be typed and addressed to :

*Acta Biologica, Budapest, IX., Tűzoltó u. 58.*

Correspondence with the editors and publishers should be sent to the same address.

The rate of subscription to the *Acta Biologica*, is 110 forints a volume. Orders may be placed with „*Kultura*” Foreign Trade Company for Books and Newspapers (Budapest, VI., Sztálin út 21. Account No. 43-790-057-181) or with representatives abroad.

---

Die *Acta Biologica* veröffentlichen Abhandlungen aus dem Bereich der biologischen Wissenschaften in russischer, französischer, englischer und deutscher Sprache.

Die *Acta Biologica* erscheinen in Heften wechselnden Umfangs. Mehrere Hefte bilden einen Band.

Die zur Veröffentlichung bestimmten Manuskripte sind, mit Maschine geschrieben, an folgende Adresse zu senden :

*Acta Biologica, Budapest, IX., Tűzoltó u. 58.*

An die gleiche Anschrift ist auch jede Korrespondenz für die Redaktion und den Verlag zu senden.

Abonnementspreis pro Band 110 Forint. Bestellbar bei dem Buch- und Zeitungs-Aussenhandels-Unternehmen »*Kultura*« (Budapest, VI., Sztálin út 21. Bankkonto Nr. 43-790-057-181) oder bei seinen Auslandsvertretungen und Kommissionären.

## INDEX

JÁMBOR, B.—KISS, J.: Determination of Hydroxylamine in Plant Materials — Определение гироксиамина в растительных веществах — Bestimmung des Hydroxylamins in pflanzlichen Stoffen .....	1
SZABÓ, G.—VÁLYI-NAGY, T.: Studies on the Resistance to Streptomycin of <i>Streptomyces griseus</i> . I. Frequency of Resistant Variants. Patterns of Resistance — Исследование резистенции к стрептомицину у <i>Streptomyces griseus</i> I. — Beiträge zur Frage der Streptomycin-Resistenz des <i>Streptomyces griseus</i> . I.....	25
GERE, G.: Investigations into the Laws Governing the Growth of <i>Hyphantria cunea</i> DRURY Caterpillars — Исследование закономерностей роста гусениц <i>Hyphantria cunea</i> DRURY — Untersuchung der Gesetzmäßigkeit in Wachstum der <i>Hyphantria cunea</i> DRURY Raupen .....	43
PÁRDUCZ, B.: Reizphysiologische Untersuchungen an Ziliaten. V. Zum physiologischen Mechanismus der sog. Fluchtreaktion und der Raumorientierung — Исследования физиологии возбуждения ресничных инфузорий. V. Данные к физиологии реакции побега Дженнингса и физиологии ориентировки в поле раздражения — Studies on the Reactions to Stimuli in the Ciliate Infusoria. V. On the Physiological Mechanism of the Avoiding Reaction and of the Orientation in Space .....	73
HARANCHY, L.: Wirkung des 3,4-Benzpyrens auf Süßwassermuscheln — Исследования действия 3,4-бензпирена на двухстворчатые моллюски — Effect of 3,4-Benzopyrene on Fresh-Water Mussels .....	101
KORMOS, J.—KORMOS, K.: Neue Untersuchungen über den Geschlechtsdimorphismus der <i>Prodiscophryen</i> — Новые исследования полового диморфизма у <i>Prodiscophrya</i> — New Investigations on the Sexual Dimorphism of the <i>Prodiscophrya</i> .....	109

# ACTA BIOLOGICA ACADEMIAE SCIENTIARUM HUNGARICAE

ADIUVANTIBUS

A. ÁBRAHÁM, B. FALUDI, B. GYŐRFFY, L. HARANGHY,  
J. SZENTÁGOVTHAI, I. SZÖRÉNYI, I. TÖRÖ

REDIGIT

R. MAUCHA

TOMUS VII

FASCICULI 2—3



1957

ACTA BIOL. HUNG.

# ACTA BIOLOGICA

## A MAGYAR TUDOMÁNYOS ÁKADEMIA BIOLÓGIAI KÖZLEMÉNYEI

SZERKESZTŐSÉG: BUDAPEST, IX., TŰZOLTÓ U. 58. KIADÓHIVATAL: BUDAPEST, V., ALKOTMÁNY U. 21

Az *Acta Biologica* angol, francia, német és orosz nyelven közöl értekezéseket a biológia köréből.

Az *Acta Biologica* változó terjedelmű füzetekben jelenik meg, több füzet alkot egy kötetet.

A közlésre szánt kéziratok, géppel írva, a következő címre küldendők:

*Acta Biologica* szerkesztőse: Budapest, IX., Tűzoltó u. 58.

Ugyanerre a címre küldendő minden szerkesztőségi és kiadóhivatali levelezés.

Az *Acta Biologica* előfizetési ára kötetenként belföldre 80,— Ft, külföldi címre 110,— Ft. Megrendelhető a belföld számára az *Akadémiai Kiadónál* (Budapest, V., Alkotmány utca 21. Bankszámla 04-878-111-46), az *Akadémiai Könyvesboltban* (Budapest, Váci u. 22., a külföld számára a „*Kultúra*” Könyv- és Hírlap Külkereskedelmi Vállalatnál (Budapest, VI., Magyar Ifjúság útja 21. Bankszámla 43-790-057-181 sz.), vagy külföldi képviseleteinél, bizományosainál.

---

Die *Acta Biologica* veröffentlichen Abhandlungen aus dem Bereich der biologischen Wissenschaften in deutscher, englischer, französischer und russischer Sprache.

Die *Acta Biologica* erscheint in Heften wechselnden Umfangs. Mehrere Hefte bilden einen Band.

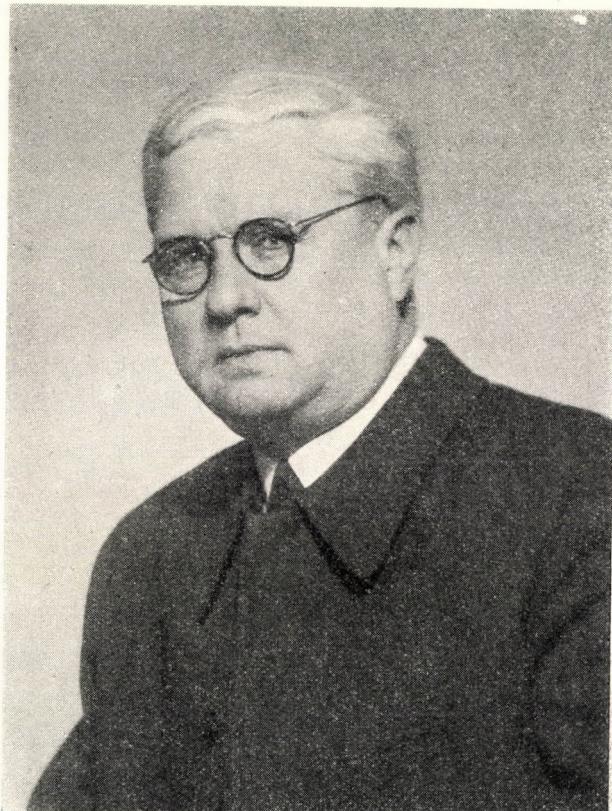
Die zur Veröffentlichung bestimmten Manuskripte sind an folgende Adresse zu senden:

*Acta Biologica*, Budapest, IX., Tűzoltó utca 58.

An die gleiche Anschrift ist auch jede Korrespondenz für die Redaktion und den Verlag zu senden.

Abonnementspreis pro Band 110 Forint. Bestellbar bei dem Buch- und Zeitungs-Aussenhandels-Unternehmen »*Kultura*« (Budapest, VI., Magyar Ifjúság útja 21. Bankkonto Nr. 43-790-057-181) oder bei seinen Auslandsvertretungen und Kommissionären.

NÁNDOR GIMESI  
GEDENKSCHRIFT



*NÁNDOR GIMESI*

## IN MEMORIAM NÁNDOR GIMESI

NÁNDOR GIMESI, university professor, academician, passed away in 1953. It was a great blow and a sad bereavement to all who respected his profound erudition, appreciated his alert mind, admired his constant readiness to grapple with new problems, and felt attracted by his winning personality.

NÁNDOR ISTVÁN GIMESI, son of a simple railway labourer, was born on December 3rd, 1892, at Kiskomárom (County Zala, Transdanubia). After studying in the secondary school at Székesfehérvár from 1904 to 1912, he joined the Cistercian Order of which he remained a member until his death. In 1918 he took a degree at the University of Budapest as a teacher of natural history, geography and chemistry, and became a Ph. D. in 1920. During his activity as a teacher in the secondary schools of his Order at Eger, Székesfehérvár and Budapest, he engaged in research work concerning biocolloidal chemistry and microtechnics. As a scholar of the International Education Board-Rockefeller jun. Foundation, he worked during the year 1925 mostly in hydrobiological institutes outside of Hungary, viz. in Switzerland (Luzern, Zurich), Germany (Plön, Helgoland) and Norway (Bergen). Having chosen the „Technical and biological application of colloids” for his professorial thesis, he was appointed university lecturer at the Polytechnical University of Budapest in 1926, assistant professor in 1927, and associate professor in 1937 at the University of Budapest. Having been invited as a professor to become the director of the Institute for Plant Physiology and of the Botanical Garden from 1943, a post he held until his death, he was a member of the reorganized Hungarian Academy of Sciences since 1948, and became the head of the Botanical Garden-Scientific Institute in 1952 which position he occupied till his death on July 16th, 1953.

Already at an early period of his scientific career, GIMESI became interested in the development and the differentiation of higher plants (development of the *Bidens* genus). During his tour abroad he was engaged chiefly in hydrobiological investigations in the Mediterranean and the Atlantic Ocean. Of no less importance were his investigations in the domains of colloidal chemistry and roentgenology in Zurich, the results of which served to emphasize the biocolloidal aspects of his later research work in cytology. His ultrafilter (GIMESI's

ultrafilter) spread his fame not only among students of colloidal chemistry but, owing to its use in biology, among hydrobiologists as well. He became a veritable artist in microphotography and micro-cinematography, while the methods introduced and the instruments invented by him meant a permanent enrichment to the science of natural history from the point of view of both methodology and the discipline of scientific instruments. He prepared a great number of scientific films, as also moving pictures for the popularization of scientific achievements. The most significant of GIMESI's cytological investigations were those concerning cell-division and nuclear mitosis, the structure of the chromosomes and the birefringence of the nuclear spindle, in which he made frequent use of the polarization-microscope ; in the evaluation of the results obtained in the course of these investigations he never lost sight of the up-to-date aspects of biocolloidal chemistry. His monographs in the Hungarian language on biological phenomena in plants and plant cytology achieved great success. During the last period of his life, GIMESI, devoting himself more and more to cell physiology, raised many a new plant physiological problem regarding differentiation and the response to stimuli. In remembering the life work of GIMESI we must not forget to record his activity as an organizer : while standing at the head of the above-mentioned institute, he established a school for plant physiology, the activities of which extended to physiology of development, metabolism, plant biochemistry, and the biological process of differentiation.

Mindful of GIMESI's selfless love of, and manifold services to, the cause of science ; his comprehensive knowledge of natural history ; his advanced views of biocolloidal chemistry ; his readiness to face new problems, so characteristic of great men ; his serene patience with which he brought scientific problems to maturity ; the unruffled peace of his mind ; his attractive personality so well suited to become the centre of spiritual communities : NÁNDOR GIMESI's disciples dedicate this volume to the memory of their great and unforgettable master.

R. MAUCHA

# THE SCIENTIFIC WORKS OF NÁNDOR GIMESI

B. I. POZSÁR

EDITORIAL STAFF OF THE HUNGARIAN ENCYCLOPAEDIA

(Received September 10, 1955)

1920. A *Bidens tripartitus* elzöldült virágzata. Vergrünung der Blütenköpfchen von *Bidens tripartitus*. *Bot. Közl.*, **18**, 16—21. (In Hungarian, with German summary.)
1921. A *Bidens*-fajok virágának fejlődése. Die Entwicklung der Blüte bei den *Bidens* Arten. *Bot. Közl.*, **19**, 66—80. (In Hungarian, with German summary.)
1921. Az anyag szerkezetének legújabb kutatása. Recent research into the structure of matter. *Magy. Kult.*, **8**, 148—150. (Hungarian.)
1923. A magyar phytoplankton két új tagja. Ungarische Planktonstudien. *Szt. István Akad. Ért.*, **8**, 48—49. (In Hungarian, with German summary.)
1924. Hydrobiológiai tanulmányok. *Planktomyces Békefii* Gim. Hydrobiologische Studien. Beiträge zur Kenntnis der Phycomyeten in Ungarn. Ciszterci Rend Kiad., Budapest. (In Hungarian, with German summary.)
1924. A colloidszűrők elmélete. Tanulmány a dispersoidiologia köréből. Die Theorie der kolloidalen Filter. Ciszterci Rend Kiad., Budapest. (In Hungarian, with German summary.)
1924. Uj mikromembránás szívó-szűrőkészülék és alkalmazása a hydrobiológiában és a technikában. Eine neue Mikrofiltrationspumpe und ihre Anwendung in der Hydrobiologie und Technik. Ciszterci Rend Kiad., Budapest. (In Hungarian, with German summary.)
1925. Über die kolloidalen Schirmfäden von *Cyclotella lemanensis*. *Z. Hydrol.*, **3**, 267—270.
1926. A cellulóz és más növényi eredetű kolloidok röntgenogrammometriájáról. Über die Röntgenogrammetrie der Zellulose und anderer pflanzlichen Kolloiden. *Bot. Közl.*, **23**, 1—18. (In Hungarian, with German summary.)
1930. Die Geburt von *Trachelomonas volvocina* EHREBG. *Arch. Protistenkd.*, **72**, 190—197.
1933. Das Mikrophotographieren mit »Kleinkamerás«. *Z. wiss. Mikr.*, **50**, 419—427.
1934. A keskenyfilmes mikrokinematographia és a természettudományok. Small-film micro-cinematography and the natural sciences. *A Magyar Orvosok és Természettudományok* 41. Vándorgyűlések Munkálatai 1934, 121—126. (Hungarian.)
1936. A keskenyfilm szerepe a biológiában. The small-film and its role in biology. *Természettud. Közl.*, **68**, 300—305. (Hungarian.)
1938. Hogyan keletkezik a virágpor? How pollen is formed? *Búvár*, **4**, 907—912. (Hungarian.)
1939. Az egyszikűek mikrosporájának osztódása. Division of the microspores of monocotyledones. *Bernardinum Emlékkönyv* 1939, 19—29. (Hungarian.)
1941. A *Cucurbita pepo* pollenenexinéjének keletkezése és fejlődése. The forming and developing of pollen exine of *Cucurbita pepo*. *Kert. Akad. Közl.*, **7**, 139—145. (Hungarian.)
1941. Az *Ornithogalum refractum* WILLD. soksejtű mikroprothalliumai. Die »vielzelligen« Mikroprothallien von *Ornithogalum refractum* WILLD. *Kert. Akad. Közl.*, **7**, 146—153. (In Hungarian, with German summary.)
1941. A *Butomus umbellatus* L. hím meiosisáról és postmeiosisáról. Über die männliche Meiose und Postmeiose von *Butomus umbellatus* L. Eine entwicklungsmechanische Studie. *Kert. Akad. Közl.*, **7**, 154—175. (In Hungarian, with German summary.)
1941. A növények életfolyamatai. Life processes of plants. In SZABÓ, Z. A növény és élete. Term.-tud. Társ. Kiad., Budapest, 202—289. (Hungarian.)
1942. A növénysejt osztódásának mechanikája. A *Cucurbita pepo* L. mikrosporatetrasának keletkezése. Über die Entstehung der Pollentetraden von *Cucurbita pepo* L. *Kert. Akad. Közl.*, **8**, 142—155. (In Hungarian, with German summary.)
1942. A kajszinleél fejlődése. Die Entwicklung der Laubblattspreite Aprikose. *Kert. Akad. Közl.*, **8**, 178—180. (In Hungarian, with German summary.)
1942. A növénycitológia mai állása. Advances in plant cytology. *Bot. Közl.*, **39**, 123—136. (Hungarian.)

1942. Mágneses mikrokompresszor. Über einen neuartigen magnetischen Mikrokompressor. *Bot. Közl.*, **39**, 182—184. (In Hungarian, with German summary.)
1945. A *Lilium martagon* antherájának fejlődésélettana. Über die Entwicklungsphysiologie der Antheren von *Lilium martagon*. *Kert. Akad. Közl.*, **10**, 209—222. (In Hungarian, with German summary.)
1949. (in collaboration with V. FRENYÓ) Csírázáságló hatások számszerű kifejezése. Numerical expression of the effects inhibiting germination. *Agrártud.*, **1**, 170—172. (Hungarian.)
1949. (in collaboration with V. FRENYÓ) Min alapszik a humus serkentő hatása a kőüsözsöspórák kihajtására? Stimulating effect of humus on the germination of *Tilletia* spores. *Agrártud.*, **1**, 252—253. (Hungarian.)
1949. (in collaboration with V. FRENYÓ) Az *Ornithogalum refractum* WILLD. virágzatának mozgása. Die Bewegung des Blütenstandes von *Ornithogalum refractum* WILLD. *Index Horti Bot. Univ. Hung.*, **7**, 1—9. (In Hungarian, with German summary.)
1949. (in collaboration with V. FRENYÓ and G. FARKAS) Az *Ampelopsis veitchii* tapadómechanizmusa. Untersuchungen über den Haftungsmechanismus von *Ampelopsis veitchii*. *Index Horti Bot. Univ. Hung.*, **7**, 10—14. (In Hungarian, with German summary.)
1949. (in collaboration with V. FRENYÓ and G. FARKAS) A *Passiflora coerulea* L. virágjának mozgásjelenségeiről. Über die Bewegungsserscheinungen in der Blume von *Passiflora coerulea* L. *Index Horti Bot. Univ. Hung.*, **7**, 15—17. (In Hungarian, with German summary.)
1949. (in collaboration with G. FARKAS) Die postflorale Bewegung des Blütenstiles von *Tradescantia virginica*. *L. Planta*, **36**, 635—637.
1949. (in collaboration with V. FRENYÓ and G. FARKAS) Experiments in the cultivation of stamens in vitro. *Hung. Acta Biol.*, **1**, 37—39.
1949. (in collaboration with G. FARKAS) A porzó és termőtáj fejlődésének correlációja. Correlation entre le développement des étamines et du pistil. *Agrártud. Egy. Kert. Kar Közl.*, **13**, 196—198. (In Hungarian, with French summary.)
1950. (in collaboration with G. FARKAS, B. POZSÁR and A. GARAY) Korrelációs vizsgálatok kukoricán. Investigations of correlation in maize. *Ann. Biol. Univ. Budapest*, **1**, 62—67. (In Hungarian, with Russian summary.)
1950. (in collaboration with G. FARKAS, B. POZSÁR and A. GARAY) Determinations-Untersuchung der Blattentwicklung. *Ann. Biol. Univ. Budapest*, **1**, 68—74.
1950. (in collaboration with A. GARAY, G. FARKAS and B. POZSÁR) A melaninképződés vizsgálata a növények fejlődésének egyes szakaszaiban és összefüggése a lélegzéssel. Investigations on the melanin forming in certain stages of development in plants with respect of respiration. *Ann. Biol. Univ. Budapest*, **1**, 75—80. (In Hungarian, with summaries in German and Russian.)
1950. (in collaboration with G. FARKAS, B. POZSÁR and A. GARAY) Cukrok mérgező hatása a gyökér meristemáira. Toxic effect of sugars on the meristem of roots. *Ann. Biol. Univ. Budapest*, **1**, 81—87. (In Hungarian, with summaries in German and Russian.)
1950. (in collaboration with G. FARKAS) Plagionatic movements. *Acta Biol. Hung.*, **2**, 260—261.
1952. (in collaboration with M. MARÓTI) A *Cymbidium lowianum* RCHB. F. pollentetrasának fejlődése. Die Entwicklung der Pollentetrale von *Cymbidium lowianum* RCHB. F. *Ann. Biol. Univ. Hung.*, **1**, 65—68. (In Hungarian, with summaries in German and Russian.)
1952. (in collaboration with M. MARÓTI) A cytoplasma szerveződéséről. Über die Organisation des Zytoplasmas. *Ann. Biol. Univ. Hung.*, **1**, 69—74. (In Hungarian, with summaries in German and Russian.)
1952. (in collaboration with M. MARÓTI) A *Pinus montana* MILL. mikrosporogenesise. Mikrosporogenese bei *Pinus montana* MILL. *Ann. Biol. Univ. Hung.*, **1**, 75—78. (In Hungarian, with summaries in German and Russian.)
1952. (in collaboration with A. GARAY, G. FARKAS and B. POZSÁR) A növényfestékek képződése. Pigment formation in plants. *Magyar Tud. Akad. Biol. Oszt. Közl.*, **1**, 51—62. (Hungarian.)
1952. (in collaboration with A. GARAY, G. FARKAS and B. POZSÁR) On the physiology of pigment formation in plants. *Acta Biol. Hung.*, **3**, 247—259.
1952. (in collaboration with V. FRENYÓ, M. MARÓTI and B. POZSÁR) A dohánymag csírázás élet-tanáról. On the physiology of germination in tobacco seeds. *Magyar Tud. Akad. Biol. Oszt. Közl.*, **1**, 223—238. (Hungarian.)
1952. (in collaboration with V. FRENYÓ, M. MARÓTI and B. POZSÁR) Études sur la physiologie de la germination de la graine du tabac. *Acta Biol. Hung.*, **3**, 420—441.
1952. Über das Vorkommen von *Eudorina illinoiensis* PASCHER in Ungarn. *Acta Biol. Hung.*, **3**, 601.
1952. (in collaboration with A. GARAY, B. POZSÁR and G. FARKAS) Az antociánok képződésének élettanáról. On the biology of the formation of anthocyanins. *Agrokém. és talajt.*, **1**, 339—346. (In Hungarian, with summaries in English and Russian.)

1954. Die Doppelbrechung der Kernspindel. *Acta Bot. Hung.*, **1**, 27—35.
1954. Fragen zur Organisation der Staubblätter. *Acta Bot. Hung.*, **1**, 37—45.
1954. (in collaboration with B. POZSÁR) Variable uptake in plant tissue in hypo-, iso- and hypertonic glycerin and salt solutions. *Acta Biol. Hung.*, **5**, 55—66.
1954. (in collaboration with B. POZSÁR) Examination of chloroplasts surviving in the necrotic cytoplasm of *Helodea canadensis*. The effect of manganous sulphate on the starch synthesis and mobilisation of the plastids. *Acta Biol. Hung.*, **5**, 67—78.
1954. (in collaboration with B. POZSÁR) Az abutilon-virus hatása a fertőzött sejtek egyes enzimáit működésének és ribonukleinsav tartalmának csökkenésére. The effect of abutilon virus on the activities of some enzymes and decrease of ribonucleic acid content of the attacked cells. *Ann. Biol. Univ. Hung.*, **2**, 89—92. (In Hungarian, with summaries in English and Russian.)
1954. (in collaboration with B. POZSÁR) A sejtfalak FEULGEN-festhetőségek kérdéséről. On the problem of the FEULGEN staining of cell walls. *Ann. Biol. Univ. Hung.*, **2**, 93—95. (In Hungarian, with summaries in English and Russian.)
1954. Tanulmányok a citológia köréből. Studies on cytology. *Bot. Közl.*, **45**, 193—198. (Hungarian.)
1955. Kolloidchemie der Hämateinate und ihre Rolle in der Mikrotechnik. *Acta Biol. Hung.*, **6**, 7—17.
1955. (in collaboration with B. POZSÁR) About the physiology of protoplasmic movements. *Acta Biol. Hung.*, **6**, 113—132.
1956. (in collaboration with B. POZSÁR) Physiological effect of heat stimulus on the germination of light- and darksensitive seeds. *Acta Biol. Hung.*, **7**, 135—151.
1956. (in collaboration with B. POZSÁR) The natural vacuolation of chromoplasts. *Acta Biol. Hung.*, **7**, 153—160.

BÉLA POZSÁR, Budapest, V., Szalay u. 10—14., VI/38, Hungary.



# PHYSIOLOGICAL EFFECT OF HEAT STIMULUS ON THE GERMINATION OF LIGHT- AND DARK- SENSITIVE SEEDS

N. I. GIMESI and B. I. POZSÁR

SCIENTIFIC LABORATORY OF THE UNIVERSITY BOTANICAL GARDENS, BUDAPEST (DIRECTOR: N. I. GIMESI)

(Received September 10, 1955)

## Summary

Heat treatments have a stimulating effect upon the processes of germination of light- and dark-sensitive oleiferous seeds (*Nicotiana* L., *Cucurbita* L.). The state of sensitivity develops at the after-ripening of seeds and becomes manifest in the wake of optimum hydration. The stimulation of abiotic temperatures (40, 50, 60° C) is particularly considerable and an inverse ratio can be ascertained between the temperature of the treatments and the duration of exposures.

The oil content of seeds decreases evenly from the beginning of the water uptake, and by the time the radicle begins to grow it vanishes completely. No physiological metabolic wave starting from the embryo can be observed in the cotyledons. Compared to the relative lipase activity of the resting seed's homogenate an increase of intensity of about 30 per cent is observable in the initial stage of development of the embryo. The difference in the degree of activity might be regarded as characteristic but because of homogenisation it is not suitable in itself to characterize the state of the metabolism in the processes of development. The quantity of free acetic acid and oleic acid increases characteristically in the course of swelling, only to decrease suddenly in the stage of development of the embryo.

Especially remarkable are the increase of the free choline level and the sudden decrease of the lipid phosphate content from the point of view of the physiology of metabolism in the dynamic stage of the development of the embryo. Beside the about 80 per cent diminution of lecithin, the amount of choline liberated as a result of choline esterase activity is considerably smaller, from which it may be concluded that it partly goes on oxydizing and partly it becomes associated; this phenomenon seems to be motivated by its reactivity and its alkaline character. The decline of lipid phosphates indicates the intensifying of the phosphate metabolism, which from the aspect of the physiology of stimuli may well be compared to the dynamic metabolic state of the brain and nerve function.

In our opinion the heat treatment asserts itself in the partial and transitory gelification of the structural elements, of the cell membranes, which is expressed in the change of the refraction index, of the conductive power, of the water and ion permeability of the plasma. With the partial gelification of the structural protein heat treatments elude the mechanism of the natural light, respectively dark stimulation.

## Introduction

In the question of the mechanism of light stimulation of light-sensitive seeds we rely on the valuable results of the experiments of BÜNNING [8] concerning the physiology of the development. Since the seeds of *Lactuca* L. which germinate in the light contain a considerable quantity of chlorophyll, and red light, as well as blue, stimulate their germination, it appears justified to consider the photosensibilizing activity of chlorophyll. This interpretation is confirmed by the higher stimulation values observed in red light, which tally with the absorptive maximum of the chlorophyll.

In our earlier experiments [18] we have dealt with the physiology of the light-sensitive seeds of *Nicotiana* L. and in concert with the pertinent results of RESÜHR [46] and MEISCHKE [36] we have ascertained that the red light stimulates effectively the germination, and that according to our fluorescent examinations, they do not contain chlorophyll. Mention must be made of our observation that appropriately treated seeds germinated in a large percentage under the action of UV irradiations of  $366 \text{ m}\mu$ . Although we have not succeeded in ascertaining the quality of the light absorber but on the basis of its considerable UV absorption we surmise that it is a compound of hydrophobic character, fluorescing in blue light. Likewise, according to our previously published data also infra-red rays act stimulatingly, from which it followed automatically that we studied also the effect of the different extreme degrees of heat.

The stimulating effect of abiotic temperatures on development has long since been known, but the investigation of the details of the mechanism is an important task of physiology which is borne out by the experimental results of MAXIMOV [34], MOLOTOVSKY [39], NIETHAMMER [40], RUBIN and SOKOLOVA [47], SUSSMANN [53] and WEINBERGER [60]. On the basis of all these we surmise that besides the mechanism of action of the light stimulus asserting itself through the photosensibilizers, stimulative processes of different character may also play a part, seeing that heat energy cannot be utilized in biochemical reactions.

RUGE [48] mentions germination in light and in the dark in such cases of light inhibition when light exposures performed at high temperatures (30, 40° C) caused stimulation. We consider it likely that in the above mentioned cases of light inhibition the heat treatment in itself, thus without light stimulus, would also cause stimulation of development.

The assessment of the data in the literature, as well as our heat treatments, which produced stimulation in the terms of this article, prompted us, to perform examinations with dark-sensitive seeds in the field of the physiology of development. We also endeavoured to extend our observations on the morphology of development from the aspect of the physiology of metabolism, in order to appreciate the action of mechanism of heat from the viewpoint of the physiology of stimuli. At the analysis of the processes of stimulation of dark-sensitive oleiferous seeds we must emphasize the experimental results of TIETZ [56], who has isolated light inhibiting lipase from dark-sensitive seeds and herewith has furnished an explanation for the mechanism of light inhibition from the point of view of the physiology of metabolism.

We expected from our experiments an answer to the question whether heat has a stimulating effect upon the development of the embryo of optimally hydrated dark-sensitive seeds. In the case of positive stimulation it may, namely, be assumed that the contrasting action of mechanism of the physiology of stimulus of light- and dark-inhibition can be substituted by a process of stimula-

tion based on common principles. We attempted to ascertain the details of heat stimulation, as well as to clear up its connections with metabolism and the conduction of stimuli.

On the strength of these considerations we arrived at the conclusion that in addition to embryological data it is necessary to characterize the physiological and biochemical aspects as well. Primarily we have examined the rate of the breakdown of the material supply, the change in the level of secondary metabolic products, as well as in the intensity of respiration and of the activity of certain enzymes. Having in view the study of the mechanism of heat stimulation from the aspect of the physiology of development, we related our data to the anabiotic state of the resting seed and followed up the dynamical processes of colloidal swelling, of physiological intensification and of the development of the embryo.

We hoped to obtain data characterizing the many-sided mechanism of the processes of stimulation by comparing the physiological metabolism of the stimulation in light and in the dark under natural conditions, on the one hand and the reactions to stimuli caused by heat treatments, on the other. At the assessment of the physiological phenomena the biocolloidal viewpoint relative to ultrastructures was also taken into consideration.

#### Material and methods

In the course of our experiments we have studied — primarily from the aspect of the physiology of stimuli — the processes of the development of the light-sensitive *Nicotiana tabacum* L. („Debrecen” variety) and of the dark-sensitive *Cucurbita pepo* L. („Iregszemcse” variety) seeds. In order to register the extent of stimulation, we started from the beginning of the growth of the radicle and expressed the rate of development in percentage values. The seeds of *Nicotiana* were treated at 25° C over 40 hours in the dark and were then exposed for 10 sec with UV light (366 m $\mu$ ), with coloured rays (750, 640, 560, 430 m $\mu$ ), with infra-red, further with heat (at 30, 35, 40, 50, 60° C) for 5, 10, 15, 20, 30 minutes. The effects depending on the time of exposure were registered after the lapse of 5 days, at the outset of the development of the embryo. The embryological examinations were performed in three repeats, in five series and the data of each series refers to 50 individuals.

The outset of the development of the embryo of the dark-sensitive *Cucurbita* was regarded as an indicator as to the action of external factors from the aspect of the physiology of stimulus. We have attempted to ascertain dark-sensitivity and dark-stimulation in the dark, in natural light, in constant artificial light, in coloured light with a determined wave length, with the seed coat, through the partial and the total removal of the epidermis and the hipodermis of the spongy parenchyma of the seed coat, of the external and internal endospermis, moreover of the cotyledons. Subsequent to the morphological characterization of the phenomena we varied the light (visible, infra-red, ultraviolet) and heat exposures in order to throw light upon the relations of the physiology of stimuli of the development.

Besides the morphological characterization, also the dynamic changes of material levels and the intensity of the activity of certain enzymes were subjected to an investigation. The changes of the organic matter content of the seeds were expressed in each case by a quantity referred to 100 g fresh weight. The contents of the investigated materials were ascertained by two samplings each and measurements repeated three times per series. The divergence of the measurements refers to the average of the data of the repeat of three series. Thus the reported value does not express the divergences in the parallels but the well-known fluctuations of the biologic matter. Thus the great divergences observed in the measurements throw into relief the peculiar discrepancy of the samples. In our opinion the stated limit values of the divergences of the data characterize clearly the dynamical features of the developmental stages, since it is

just the high values of the divergences which indicate the metabolic conditions which are active from the physiological point of view.

The oil content of seeds was determined with the help of a SOXLETH apparatus. The amount of free acetic acid and free oleic acid was measured with the method of BAUER [3]. The total acid content was titrated with the usual 0,01 *n* alcoholic sodium hydroxide. The amount of lipid phosphates was computed on the basis of phosphates measured in ethereous oil extract and of the free choline content. The amount of phosphate was measured with the method of KRAINICK [62] and the amount of free and fixed choline with that of KLEIN [28]. The relative quantity of free amino acids was determined according to BÖHM and GRÜNER [62].

The investigations on enzymatic activities were carried out with aqueous homogenisates, while lipase activity was determined with the method of WILLSTÄTTER—WALDSCHMIDT-LEITZ [61] and PAECH—SIMONIS [44], and choline esterase activity with the procedure of HASE [22], KATES [27], and ACKER [1]; in addition to the latter methods we have also taken into consideration the data of APPLETON [2], CHADWICK [11] and ZITTLE [63]. Respiration intensity was measured on the basis of the carbon-dioxyde production of the tissues, with the method of STOCKER [51].

Investigations were conducted in order to observe the occasional breakdown of the lecithin. In the model experiment lecithin was emulsified in a 0,02 per cent concentration in an aqueous phase and it was illuminated over 30 minutes with visible, infra-red and ultraviolet rays. The amount of free choline and free oleic acid was measured immediately following irradiation, furthermore one hour, and two hours later and in each case we have compared it with the fixed choline and fixed phosphate content.

### Experimental results

According to our earlier data, light sensitivity develops in the course of after-ripening and comes into display during the swelling processes, and thus, in the light-sensitive state, light impulses of strikingly low intensity of very short duration even, induce stimulation. From among our experimental results we consider as very essential the stimulating effect of infra-red (Table 1, Fig. 1.)

Table 1  
The effect, after a lapse of 5 days, of light exposures of 5 sec. on the germination of the light-sensitive seeds of *Nicotiana L.* treated in the dark at 25 °C for 40 hours

Wave length in m/ <i>μ</i>	Germination in %	Divergence of the % of germination
Constant dark .....	8	± 3,1
366 .....	34	± 9,2
470 .....	42	± 12,5
560 .....	14	± 7,8
640 .....	58	± 15,1
750 .....	60	± 12,3
1200 .....	67	± 10,8
1400 .....	82	± 13,2
Constant natural light ...	96	± 3,5

and of abiotic temperatures (Table 2). It should be noted that the infra-red radiations refer to cold light produced by means of a heat abstracting glass plate.

Having compared this positive effect with the greater energy content and lower efficacy of stimulation of ultraviolet rays, furthermore with the fact that the seeds of *Nicotiana L.* do not contain fluorescent chlorophyll, we suspected besides the possibility of photosensibilisation a stimulating mechanism of another nature. On the basis of the obtained data we have subjected the stimulating effect of the different temperatures and times of exposure to a thorough study. Compared to natural temperatures the period of exposure gradually decreases at abiotic

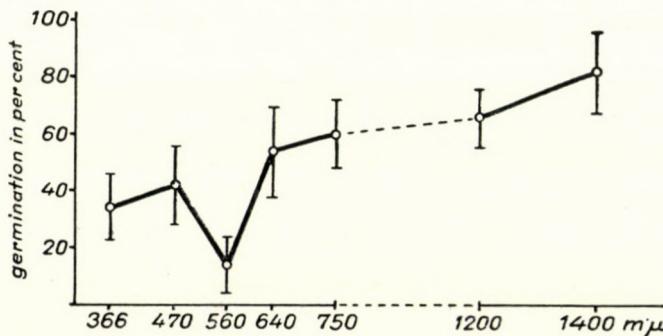


Fig. 1. The effect of light exposures of 5 sec. of different wave lengths on the germination per cent of pre-treated light-sensitive *Nicotiana L.* seeds

Table 2

Effect, after the lapse of 4 days, of heat exposures on the germination of light-sensitive *Nicotiana L.* seeds treated for 30 hours at 25°C

Period of exposures in min.	Temperature* in °C				
	30	32,5	35	40	50
5 .....	13,2	27,5	21,4	43,0	34,5
10 .....	19,0	28,9	37,9	51,7	66,3
15 .....	20,8	28,2	42,6	72,4	76,2
20 .....	21,4	26,3	57,4	94,5	87,6
30 .....	26,1	54,5	92,8	89,7	74,3

\*The divergence (S) of the germination percentage fluctuates between 5—12%.

temperatures. At the temperature of 60°C used in the experiments, the effect of a period of exposure of some minutes corresponds to that of half an hour at 35°C. Though the stimulating effect of physiological temperatures (15—30°C) is minimal, the stimulation of longer exposures might be notable. Particularly the influence of the fluctuations of temperature is considerable.

Compared to the experimental analysis of light-sensitivity and light stimulation, the phenomenon of dark-sensitivity is a rather less explored field. In our experiments on the physiology of stimuli we have used chiefly the seeds of the

dark-sensitive variety of *Cucurbita pepo* L., and to register the stimulations caused by external factors the criterium of embryonic development has been taken into consideration (Table 3).

Table 3

*The effect of constant dark, of artificial white light, of artificial coloured light with known wave length on the development of the embryos with seed coat, devoid of seed coats and cotyledons of the dark-sensitive *Cucurbita* L. at 25° C, after the lapse of 7 days ("—" — lack of data)*

Treatments	Percentage of germination and divergence of the percentage of germination of				
	original seeds with seed coat	seeds deprived of epi- and hypodermis	seeds deprived of seed coat parenchyma	seeds deprived of peri- and endosperm	seeds deprived of cotyledons
Constant dark .....	94± 5,7	78±11,9	84±12,0	80± 9,7	73±10,7
Constant artificial white light .....	6± 4,3	5± 3,8	92± 6,3	92± 3,5	88± 9,3
Natural sunlight .....	18±10,2	12± 7,4	72±10,8	68±11,8	78±11,5
Constant infra red 1400 m $\mu$ .....	35±12,3	—	—	—	—
Constant infra red 1200 m $\mu$ .....	32± 9,7	—	—	—	—
Constant red light 750 m $\mu$ .....	24± 8,3	—	—	—	—
Constant yellow light 640 m $\mu$ .....	19±10,4	—	—	—	—
Constant green light 560 m $\mu$ .....	13± 7,2	—	—	—	—
Constant blue light 470 m $\mu$ .....	10± 7,9	—	—	—	—

The variety which in permanent darkness germinates on a 94 per cent average, germinates in values under 20 per cent at 25° C in natural light, as well as in constantly illuminated artificial white light. The phenomenon is particularly interesting in view of the fact that the constant illumination of white light causes a much more considerable inhibition (6%) than the periodicity of the natural light (18%).

The removal of the epidermis and hypodermis of the seed coat containing thick-walled cell rows did not induce stimulation under illumination, thus from the aspect of physiological excitation it would seem to be ineffective, indifferent. From this follows on the one hand, that the light rays playing a part in the inhibition of development penetrate through the somewhat transparent seed-coat and, on the other, that the light absorbing layer is located farther inward. Subsequent to the removal of the spongy parenchyma of the seed-coat, the phenomenon of light inhibition ceases, thus the parenchyma containing chlorophyll may be held to be primarily responsible for the inhibitory phenomena. The perispermium and endospermium together constitute the innermost layer

of seeds, which layer, according to our experiments, is equally indifferent from the point of view of light stimuli.

The partial or total removal of the cotyledons does not inhibit the outset of growth of the radicle; this phenomenon, on the one hand, shows that the embryo contains at least so much reserve nutritive matter as is necessary for the realization of the growth in length of the radicle; on the other hand, it raises the generally known problem that the multiple of the nutritive matter supply needed for the heterotrophic nutrition of the embryo is stored in the cotyledons.

Heat exposures stimulate the germination of dark-sensitive *Cucurbita* L. seeds in the same order of magnitude as that of the light-sensitive *Nicotiana* L. seeds (Table 4). By this experimental result, through the stimulating mechanism

Table 4

*The effect of heat exposures on the germination of dark-sensitive Cucurbita seeds treated constantly in artificial white light at 25° C for four days, after the lapse of 2 days*

Duration of exposures in minutes	Temperatures in °C*				
	30	35	40	50	60
5 .....	12	21	25	37	58
10 .....	15	27	40	63	69
15 .....	18	28	48	78	92
20 .....	16	35	62	90	65
30 .....	21	54	85	71	—

\*The divergence of the percentage of germination (S) fluctuates between ±8—14 per cent.

of heat, we have linked up the phenomenon of light- and dark-sensitivity into a common type. This type of release of the sensitivity must, however, be distinguished from the mechanism of the natural light- and dark-stimulation.

Having in view the characterization of developmental processes we have determined the level of the reserve and of the secondary organic matters, moreover the intensity of certain enzymatic activities. The decrease of the oil content (Fig. 2) begins already during the swelling processes and the degree of the breakdown is maintained evenly until the outset of growth of the radicle. The oil content disappears completely already before the embryo's development begins. Lipase activity (Fig. 3) is very intense even in the anabiotic state of rest and compared with it, even in the most active metabolic stage of the development of the embryo, only a 30 per cent increase of relative activity can be observed. The disparity in the intensity of activity, even besides a divergence value of 15 per cent, may be considered significant from the point of view of the physiology of development. The climax in the intensity of activity tallies with the most energetic metabolic state of the embryo's development and the culminating point follows faithfully the processes of stimulation caused by the heat stimulus.

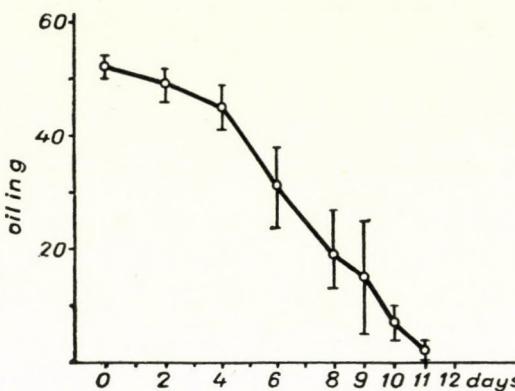


Fig. 2. Decrease of the oil content in *Cucurbita* L. seeds treated in constant dark

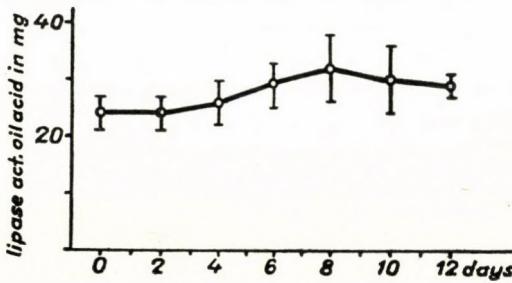


Fig. 3. Intensity of lipase activity in the homogenise of *Cucurbita* L. seeds treated in dark

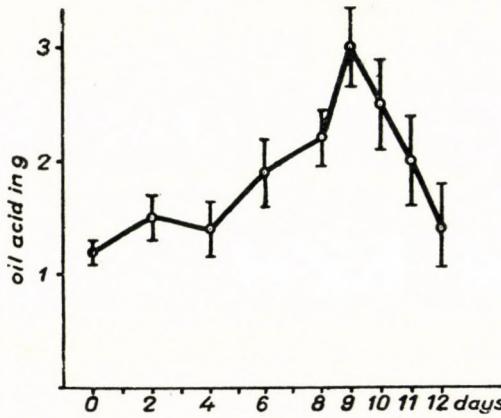


Fig. 4. Free oleic acid content of *Cucurbita* L. seeds treated in dark

Free oleic acid (Fig. 4) and free acetic acid (Fig. 5) are present in slight quantity in the resting seed, but this quantity suddenly increases in the stage following the termination of colloidal water uptake. The organic acids of a secondary

character, however, do not accumulate to such an extent as it might be concluded from the decrease of reserve nutritive matters, from which it may be inferred that they break down consecutively and totally. At the outset of the embryo's development the organic acids sink to a considerably lower level. The uniform increase of the intensity of respiration (Fig. 6) might well be compared to the steady decrease of the reserve materials.

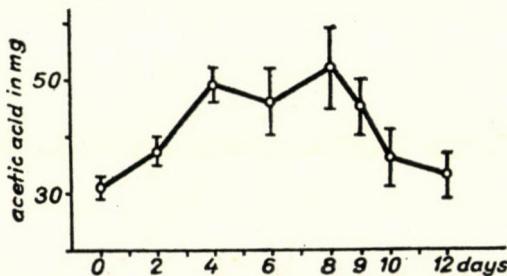


Fig. 5. Free acetic acid content of *Cucurbita* L. seeds treated in dark

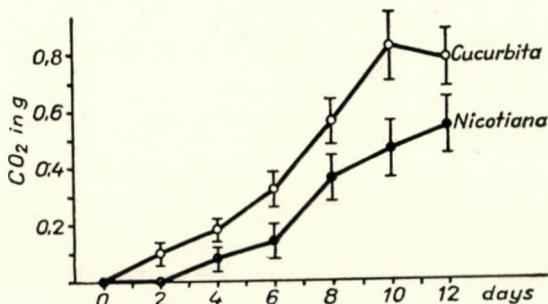


Fig. 6. Intensity of respiration of *Nicotiana* L. seeds treated in light and of *Cucurbita* L. seeds treated in dark, on the basis of the carbon-dioxide amount

Among our measurements of material levels the sudden change of the lipid amount may be considered as the most remarkable (Fig. 7). This intense lipid metabolism is characteristic of the state immediately preceding the embryo's development. According to our measurements the lipid phosphate decreases within 2—3 days to 20—30 per cent of its original amount, whereas shortly after the outset of the growth of the radicle it increases and even surpasses the original level by about 10 to 20 per cent. The lipid content of the seeds agrees essentially with the calculations based on the measurements of bound choline and lipid phosphates. Simultaneously with the leaplike decrease of the lipid content also the amount of free choline increases considerably (Fig. 8), then in the developmental state of the embryo it again decreases to its original amount. The free choline content does not increase to such a high level as might be

expected on the basis of the breakdown of the lecithin, this is partly motivated by its alkaline character and its characteristic reactivity. The increase of the

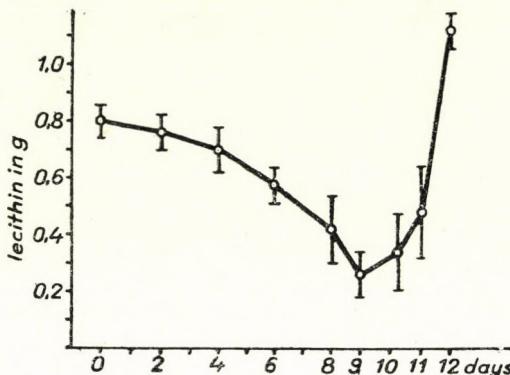


Fig. 7. Change of the lecithin content of *Cucurbita* L. seeds treated in dark

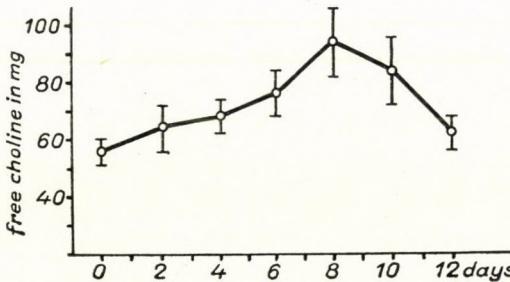


Fig. 8. Free choline content of *Cucurbita* L. seeds treated in dark

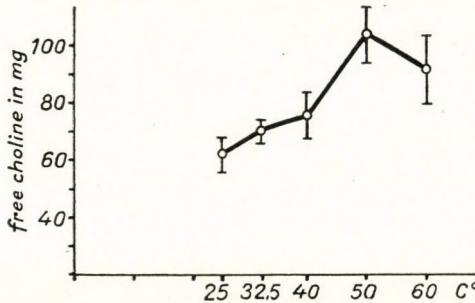


Fig. 9. Change, after the lapse of 2 days, of the free choline content of *Cucurbita* L. seeds treated for four days in constant artificial light; the change being due to the effect of abiotic heat exposure

choline level could be generally observed — parallel with the processes of stimulation — in the wake of reactions to stimuli, particularly to heat exposures in sensitive states (Fig. 9). For that very reason we have considered the increase of

the amount of free choline as a characteristic reaction from the aspect of the physiology of stimuli. Though the maximum of choline esterase activity coincides with the active state from the aspect of the physiology of metabolism, but compared to the homogenisate of the resting seed it shows only an increase of 10 per cent which, taking into account the divergence of  $\pm 7$  per cent, cannot be considered essential.

On the strength of all these we have assumed that the effects occurring in the reactions to stimuli might possibly play a direct role in the photochemical or thermochemical breakdown of lecithin. Assuming the possibility of the photochemical breakdown of the lecithin, we have measured the amount of free choline, free oleic acid and of anorganic phosphates subsequent to light and heat exposures. The assumed effect, however, has not been borne out by our measurements.

Finally we have examined the relative quantity of free amino-acids and we have observed that compared to the original it doubles in the developmental stage of the embryo. The relative amino-acid level uniformly increases both in the colloidal swelling and the active metabolic states.

#### Evaluation of experimental results

Light sensitivity develops in the course of swelling processes and it might increase to such an extent that a light stimulus of very slight intensity ( $750 \text{ m}\mu$ ) and of very short duration (1 sec) may also be able to induce the stimulation of the development, as has been confirmed by ISIKOWA [25] and ONO [42] too. The degree of light sensitivity materializing during the optimum swelling, depends on the after-ripening of seeds [48].

The effect of physiological temperatures ( $18-25^\circ \text{ C}$ ) is added up over a long time (7-10 days), and this fact makes possible the germination in the dark of light-sensitive seeds [35]. Particularly the periodicity of the day-night fluctuations of temperature acts favourably.

For the interpretation of the action of mechanism of light impulses we consider the fundamental principles of BÜNNING [8] as valid, provided the light energy asserts itself through photosensibilators only. The data of TIETZ [55, 56] furnish an explanation as to the stimulation in the dark of dark-sensitive seeds, in as much as he has demonstrated the relations of light inhibition and of the physiology of metabolism. Our experimental data refer primarily to the physiological effects of heat treatments, thus we do not touch upon the questions of detail of the natural stimulation in the dark, we shall only point out that the spongy parenchyma of the seed coat containing chlorophyll may be regarded as the dark-sensitive layer of the seeds of *Cucurbita L.* In the phenomenon of light inhibition observed in lipase activity [55, 56] the light absorber would be the photosensitive chlorophyll (?).

We consider as very important the fact that both light- and dark-sensitive oleiferous seeds can be stimulated by heat treatment. Particularly striking is the stimulating effect of exposures of short duration performed at abiotic temperatures. The assessment of the material levels and enzymatic activities render it possible to account for the uniform mechanism of the physiology of stimuli of the sensitivity states which are of opposite directions.

The decrease of the oil content starts already during the swelling processes and progresses proportionately until the development of the embryo [43]. From the aspect of the physiology of development one conclusion drawn from our observations deserves to be mentioned, namely that the reserve nutritive matters break down simultaneously in every part of the cotyledon, thus a physiological metabolic wave starting from the embryo cannot be proved. The uniformity of the decrease of the oil is not expressed by the curve of lipase activity. Our examinations concerning enzymatic activity refer to homogenisates and do not express the true metabolic state because mechanical intervention may in practice change the submicroscopic plasmatic structure, the regular function of structural elements completely. According to the data of PERNER [45], a large per cent of the mitochondria become disorganized in the course of homogenisation. In accordance with the up-to-date enzymatological concept, enzymatic activity is considerably influenced by the ultrastructure and thus the degree of enzymatic activity affords a very distorted picture of the true metabolic state, as we ourselves have observed in connection with the lipase activity of resting seeds. The pertinent data of BÜNNING [8] and BOURNE [6] show that the films of lipid character, the lipid-impregnated protein membranes by covering the enzymes govern the activity of the latter.

The increasing, then decreasing level of fatty acids indicate the hydrolytic trend of lipid activities [30, 44] which is followed by the consistently progressing  $\beta$ -oxidation [17, 20, 32].

The amount of lipids increases at the ripening of seeds but especially in the course of after-ripening [9, 16, 37], and this accounts for the markedly high lipid content of resting oleiferous seeds. From the point of view of the physiology of stimuli, one of the most essential results of our experiments was the sudden change of the lipid content. The enhancement of the free choline level [1, 4, 21, 27] is the result of the enzymatic breakdown of lecithin. (BUCHANAN [7] has observed the increase of choline under the effect of X-ray irradiation.) In the wake of choline esterase activity (acetyl choline, true choline esterase, specific choline esterase) [2, 33, 50, 54], about 20 to 30 per cent more free choline should be present as may it be expected from the decrease of the lecithin content. Choline partly oxidizes by means of the choline oxidase [29, 38] partly becomes associated [5]. Because of the pH of about 5 of the tissues the amount measured actually as free choline should also be considered as loosely bound choline.

Owing to choline esterase activity, phospholipids arise from the lecithin

[15, 24], then due to the effect of phosphatase, diglycerids are formed. The phosphates, the carbohydrate, the protein occasionally get into the lipid metabolism again.

The secondary increase of the lipid level is characteristic of the state after the development of the embryo has begun. At all events the change observable in the lipid metabolism shows the active life function of the embryo, this function coordinating the metabolic processes. The active lipid metabolism can be brought into connection — particularly from the aspect of the physiology of stimuli — with the similar dynamics of the lipoid content of the brain and nerve tissues. The lipid metabolism is one of the vital questions of the physiology of stimuli and excitation [10, 14, 23, 31, 41, 59]. TORDA [57] and STREICHER [52] ascertained with the help of  $P^{32}$  isotopes that the phosphate and lipoid metabolisms are particularly active and dynamic during the brain and nerve functions.

The lipid metabolism in plants is especially intense in the course of the formation of the anabiotic, i. e. the reversibly dehydrated stage of rest as well as during the physiologic activation of the state of rest. The markedly high lipid content of the reversibly anabiotic organs and the results of the reactions to stimuli disclose interesting interconnections from the aspect of the physiology of metabolites.

In our opinion a connection may be established between the increase of the relative amino level during swelling and the mechanism of the heat effect. The stimulating effect of heat is primarily perceivable in the reversible gelification of the protein substance (structural protein). This is why heat treatment acts more favourably after the development of hydration in a regular measure, because in the wake of the swelling of proteins the protein/lipid volume characteristic of the state of rest changes. The gelification of protein manifesting itself as a result of heat is concomitant with the partial destruction of lipoid-impregnated protein membranes and other plasmatic structures that contain protein [13]. The results of the temporary and on all accounts only partial gelification of the ultrastructure are the change of the refraction index, of the conducting power, of the permeability of water and electrolytes etc., concerning which we relied on the examinations of VASILEVA [58] in the first place. The increasing ion-permeability makes possible the considerable enhancement of the degree of intensity of enzymes. Thus the more remote consequence of the effect of stimuli is based on the physiologic-metabolic stimulation of enzymatic activities that release energy.

Even on the basis of the negative results of our model experiment it would seem that the stimulating effect of heat asserts itself indirectly in the intensification of the metabolism [53]. The physical and biocolloidal examinations of protein and of lipoid-impregnated protein membranes [12, 26, 49] form an integral part of the examinations of the ultrastructure. On the basis of the new trend of concept of the physiology of stimuli — now in the making — and on the strength

of our earlier cytological results [19] we believe that the fact of the dynamic development of ultrastructures is possible.

#### REFERENCES

- ACKER, L., ERNST, G. (1954) Über das Vorkommen eines phosphatspaltenden Ferments in Cerealien. *Biochem. Z.*, **325**, 255—257.
- APPLETON, H. D., BERT, N., LA DU, J., BETTY, B. L., STEELE, M., BRODIE, B. B. (1953) A chemical method for the determination of free choline in plasma. *J. Biol. Chem.*, **205**, 803—813.
- BAUER, K. H. (1950) Die organische Analyse. Akad. Verl., Leipzig.
- Березовская, Н. Н. (1954) Активность лецитиназы в органах и тканях нормальных морских свинок и после введения  $\alpha$ -токсина *Bac. perfringens*. *Биохимия*, **19**, 229—303.
- BERMAN, R., WILSON, L. B., NACHMANSOHN, D. (1953) Choline acetylase specificity in relation to biological function. *Biochem. Biophys. Acta*, **12**, 315—324.
- BOURNE, G. H. (1951) Cytology and cell physiology. Clarendon, Oxford.
- BUCHANAN, D. J., DARBY, W. J., BRIDGEFORTH, E. B., HUDSON, G. W., EFNER, J. A. (1953) Choline studies in rats following whole-body X-irradiation. *Amer. J. Physiol.*, **174**, 336—340.
- BÜNNING, E. (1953) Entwicklungs- und Bewegungsphysiologie der Pflanze. Springer, Berlin.
- CALABRESE, A. M. (1954) Sull'attività della lipasi del *Ricinus communis* in particolari condizioni sperimentali. II. Variazioni di attività durante il ciclo di maturazione del seme. *Ricerca Sci.*, **24**, 1016—1020.
- Цейтлин, Л. А. (1953) О превращениях фосфоркреатина в мозговой ткани крыс. *Биохимия*, **18**, 311—314.
- CHADWICK, L. E., LOVEL, J. B., EGNER, V. E. (1954) The relationship between pH and the activity of cholinesterase from flies. *Biol. Bull.*, **106**, 139—148.
- CHEESMAN, D. F. (1953) An apparent re-orientation of protein monolayers by nucleic acid. *Biochem. Biophys. Acta*, **11**, 439—440.
- DAUGEARD, P. (1954) Sur la persistance de cellules sans chondriome dans les radicules ayant subi un traitement thermique. *C. R. Acad. Sci.*, **238**, 2375—2378.
- DAWSON, R. M. C. (1955) A note on the estimation of sphingomyelin in nervous tissue. *Biochem. J.*, **56**, 621—625.
- DI LUZIO, N. R., ZILVERSMIT, D. B. (1953) The effect of choline on phospholipid synthesis in dog liver slices. *J. Biol. Chem.*, **205**, 867—871.
- Феофанова, Н. Д. (1954) Зависимость интенсивности дыхания и всхожести семян от условий их репродукции. *Докл. Акад. Наук СССР*, **96**, 853—856.
- FRANKE, W., FREHSE, H. (1953) Zur Autoxidation der ungestättigten Fettsäuren. VI. Über die Lipoxydase der Gramineen, im besonderen der Gerste. *Z. physiol. Chem.*, **295**, 333—349.
- GIMESI, N. I., FRENYÓ, V., MARÓTI, M., POZSÁR, B. I. (1952) Études sur la physiologie de la germination de la graine du tabac. *Acta Biol. Hung.*, **3**, 419—441.
- GIMESI, N. I., POZSÁR, B. I. (1955) About the physiology of the protoplasmic movements. *Acta Biol. Hung.*, **6**, 113—132.
- GREEN, D. E. (1954) Fatty acid oxydation in soluble systems of animal tissues. *Biol. Rev.*, **29**, 330—366.
- HANAHAN, D. J. (1954) The site of action of lecithinase A on lecithin. *J. Biol. Chem.*, **207**, 879—884.
- HASE, E. (1952) Studies on the mechanism of action of cholinesterase. I. Kinetic studies on the action of hydrogen ions upon cholinesterase. *J. Biochem.*, **39**, 259—266.
- HEBB, C. O. (1954) Acetylcholine metabolism of nervous tissue. *Pharmacol. Rev.*, **6**, 39—43.
- HOKIN, M. R., HOKIN, L. E. (1954) Effects of acetylcholine on phospholipides in the pancreas. *J. Biol. Chem.*, **209**, 549—558.
- ISIKOWA, S. (1952) On the light-sensitivity of tobacco seeds. I. Change of the light-sensitivity with the time of inhibition. *Bot. Mag.*, **65**, 257—262.
- KAPLAN, J. G., FRASER, M. J. (1954) The expansion of mononuclear films of ovalbumin. *J. Biol. Chem.*, **210**, 57—64.
- KATES, M. (1954) Lecithinase systems in sugar beet, spinach, cabbage and carrot. *Canad. J. Biochem. Physiol.*, **32**, 571—583.

28. KLEIN, G. (1933) *Handbuch der Pflanzenanalyse*. Springer, Wien.
29. KRÜSKEMPER, H. L., DIRSCHERL, W. (1953) Zur Kenntnis der Cholinoxydase. *Biochem. Z.*, **323**, 512—519.
30. LIPPMAN, F., TUTTLE, L. C. (1950) Lipase-catalysed condensation of fatty acids with hydroxylamine. *Biochem. Biophys. Acta*, **4**, 301—309.
31. Лисовская, Н. П. (1954) Фосфопротеины и обмен веществ мозга. *Биохимия*, **19**, 626—637.
32. MAHLER, H. R. (1953) Role of coenzyme A in fatty acid metabolism. *Feder. Proc.*, **12**, 694—704.
33. MARKWARDT, F. (1953) Untersuchungen über den Einfluss von Sulfhydrylreagenzien auf die Acetylcholinesterase. *Z. Physiol. Chem.*, **295**, 264—270.
34. Максимов, Г. А. (1955) Тепло и влагообмен в семенах растений при набухании. *Физиол. раст.*, **2**, 81—83.
35. MÁNDY, Gy., BÖJTHE, G., SZÉKELYHIDI, Á. (1952) A fény és hőmérésélet hatása a kapadóhányfajták csírázására. Effect of light and heat on the germination of *Nicotiana rustica* L. *Magyar Tud. Akad. Biol. Oszt. Közl.*, **1**, 291—315. (In Hungarian.)
36. MEISCHKE, D. (1936) Über den Einfluss der Strahlung auf Licht- und Dunkelkeimer. *Jahrb. wiss. Bot.*, **30**, 471—506.
37. MEYER, J. (1954) Sur l'accumulation et l'origine de lipides dans certains tissus nourriciers de galles. *C. r. Acad. Sci.*, **238**, 1066—1069.
38. MILLER, Z. (1953) Influence of the ethylenine structure on the oxydation of choline, formaldehyde and sarcosine. *Arch. Biochem. Biophys.*, **47**, 137—147.
39. Молотковский, Г. Х., Глускина, Б. Г. (1953) Влияние намачивания семян кукурузы в нагретой воде на ее рост и урожай. *Докл. Акад. Наук СССР*, **92**, 679—680.
40. NIETHAMMER, A. (1927) Der Einfluss von den Reizchemikalien auf die Samenkeimung. *Jahrb. wiss. Bot.*, **67**, 223—241.
41. NOËL, R., BRESSAND, R. (1952) Détection histochimique de la cholinestérase au niveau de la zone de jonction myoneurale. *C. R. Soc. Biol.*, **146**, 1211—1213.
42. ONO, K. (1953) Studies on the light effect upon the germination of Japanese cypress (*Chamaecyparis obtusa*) seeds. *Jour. Japanese Forest. Soc.*, **36**, 89—92.
43. PAECH, K. (1950) *Biochemie und Physiologie der sekundären Pflanzenstoffe*. Springer, Berlin.
44. PAECH, K., SIMONIS, W. (1952) Übungen zur Stoffwechselphysiologie der Pflanze. Springer, Berlin.
45. PERNER, E. (1952) Über die Veränderungen der Struktur und des Chemismus der Zelleinschlüsse bei der Homogenisation lebender Gewebe. *Ber. deutsch. bot. Ges.*, **65**, 235—238.
46. RESÜHR, B. (1939) Beiträge zur Lichtkeimung von *Amaranthus caudatus* L. und *Facelia tanacetifolia* BENTH. *Planta*, **30**, 471—506.
47. Рубин, Б. А., Соколова, В. Е. (1954) Особенности реагирования дыхания озимой и яровой пшеницы на температуру. *Извест. Акад. Наук СССР, сер. биол.* (1), 20—31.
48. RUGE, U. (1951) Übungen zur Wachstums- und Entwickelungsphysiologie der Pflanze. Springer, Berlin.
49. SMITH, C. L. (1954) The inactivation of monomolecular films of protein and its relation to the lifetime of active radicals formed in water by  $\alpha$ -radiation. *Arch. Biochem. Biophys.*, **50**, 322—336.
50. STEDMAN, E. (1954) Anticholinesterases. Cholinesterases as enzymes. *Chem. & Ind.*, **1954**, 414.
51. STOCKER, O. (1942) *Pflanzenphysiologische Übungen*. Fischer, Jena.
52. STREICHER, E., GERARD, R. W. (1954) Phosphate ( $P^{32}$ ) exchange in brain phospholipids in vivo and in vitro. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **85**, 174—177.
53. SUSSMAN, A. S. (1954) The sensitization of ascospores to chemical activators by heat treatment. *Mycologia*, **46**, 143—150.
54. THAA, H. (1953) Cholinhaltige Arzneipflanzen. Ein botanisch-medizinischer Beitrag zur Wirkung und Anwendung einheimischer Arzneipflanzen unter Berücksichtigung ihrer Rolle in der Volksmedizin. *Pharmazie*, **8**, 262—268.
55. TIETZ, N. (1953) Über mögliche Beziehungen des Fettstoffwechsels zum Lichtkeimproblem. *Biochem. Z.*, **324**, 517—529.
56. TIETZ, N. (1954) Die Bedeutung des Damascenin für die Fettehydrolyse. II. Mitt. zum Lichtkeimproblem. *Biochem. Z.*, **325**, 123—129.
57. TORDA, C. (1954) Effects of corticotropin and various convulsion inducing agents on the  $P^{32}$  content of brain phospholipids, nucleoproteins and total acid-soluble phosphor compounds. *Amer. J. Physiol.*, **177**, 179—182.

58. Васильева, Н. Г. (1953) Влияние высоких температур на коллоидно-химические свойства протоплазмы растений. *Докл. Акад. Наук СССР*, **88**, 341—344.
59. Владимиров, Г. Е., Иванова, Т. Н., Правбина, Н. И. (1954) Влияние функционального состояния на обмен фосфорных соединений в мозговой ткани. *Биохимия*, **19**, 578—585.
60. WIENBERGER, J. H. (1954) Effects of high temperatures during the breaking of the rest of Sullivan Elberta peach buds. *Proc. Amer. Soc. Horticult. Sci.*, **63**, 157—162.
61. WILLSTÄTTER, R., WALDSCHMIDT-LEITZ, E. (1924) Über Ricinuslipase. *Z. Physiol. Chem.*, **134**, 161—223.
62. ZEISS, C. (1950) Klinische Kolorimetrie mit dem Pulfrich-Photometer. Fischer, Jena.
63. ZITTLE, CH. A., DELAMONICA, E. S., CUSTER, J. H. (1954) Purification of human red cell acetylcholinesterase. *Arch. Biochem. Biophys.*, **48**, 43—49.

### ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ ТЕПЛОВОГО РАЗДРАЖЕНИЯ НА ПРОРАСТАНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ К СВЕТУ И ТЕМНОТЕ СЕМЯН

Тепловая обработка оказывает стимулирующее действие на процесс прорастания чувствительных к свету и темноте масличных семян (*Nicotiana L.*, *Cucurbita L.*). Состояние чувствительности образуется в ходе послеворочного дозревания семян и осуществляется вслед за оптимальной гидратацией. В частности стимуляция посредством абиотических температур (40, 50, 60 °C) является значительной, причем между температурой обработки и длительностью экспозиции наблюдается обратная пропорциональность.

С начала поглощения воды содержание масла в семенах равномерно уменьшается и до наступления роста первичного корешка практически совершенно исчезает. В семядоли не наблюдается физиологической волны обмена веществ, исходящей из зародыша. По сравнению с относительной липазной активностью гомогенизата покоющихся семян в начальной фазе развития зародыша наблюдается приблизительно 30 процентное повышение интенсивности. Разницу в степени активности можно рассматривать характерной, однако, ввиду гомогенизации она сама по себе не применима в качестве характеристики для состояния обмена веществ отдельных процессов развития. Количество свободной уксусной кислоты и олеиновой кислоты своеобразно повышается в ходе набухания, но затем, в фазе развития зародыша внезапно снижается.

Особенно поразительным является внезапное повышение свободного холина, и скачкообразное уменьшение липоидного фосфата в динамическом — с точки зрения физиологии обмена веществ — состоянии развития зародышевого перышка. При примерно 80 процентном уменьшении лецитина, количество холина, освобожденного вследствие деятельности холинэстеразы, значительно меньше, из чего авторы делают заключение, что холин отчасти продолжает окисляться, а отчасти же ассоциируется; это обусловливается реакционной способностью и щелочностью холина. Уменьшение липоидного фосфата указывает на усиление фосфорного метаболизма, что с точки зрения физиологии раздражения можно хорошо сравнивать с динамическим состоянием обмена веществ корковой и нервной деятельности.

По мнению авторов действие тепла проявляется непосредственно в частичной и временной гелификации содержащих белки структурных элементов, ультраструктур, и пограничных мембран, что выражается в изменении коэффициента преломления, проводимости, водо- и ионопроницаемости плазмы. Путем частичной гелификации протеинов теплоОбработка обходит механизм естественной стимуляции светом или темнотой.

### BIOLOGISCHE REIZWIRKUNG DER WÄRME AUF DAS KEIMEN DER LICHT- UND DUNKELEMPFINDLICHEN PFLANZENSAMEN

Auf die Keimprozesse der licht- und dunklempfindlichen Ölsamen (*Nicotiana L.*, *Cucurbita L.*) üben die Wärmebehandlungen eine stimulierende Wirkung aus. Der Empfindlichkeitszustand entwickelt sich zur Zeit der Spätreife der Samen und aktualisiert sich im Zusammenhang mit der optimalen Hydratation. Besonders bedeutend ist die Stimulation durch abiotische Temperaturen (40, 50, 60 °C) und es kann zwischen dem Wärmegrad der Behandlungen und der Zeitdauer der Expositionen ein umgekehrtes Verhältnis festgestellt werden.

Der Ölgehalt der Samen nimmt mit Beginn der Wasseraufnahme gleichmässig ab und verschwindet bis zum Beginn des Wachstums der Radikula praktisch vollkommen. In den Keimblättern ist eine vom Keim ausgehende biologische Stoffwechselwelle nicht zu beobachten. Im Vergleich zur relativen Lipasen-Aktivität im Homogenisatum des ruhenden Samens ist im Anfangsstadium der Embryoentwicklung eine ungefähr 30%-ige Intensitätserhöhung wahrnehmbar. Der Unterschied im Aktivitätsgrad kann zwar als bezeichnend betrachtet werden, doch ist er infolge der Homogenisierung für sich allein zu einer Charakterisierung des Stoffwechselzustandes der Entwicklungsvorgänge nicht geeignet. Die Menge der freien Essig- und Ölsäuren erhöht sich sonderbarerweise im Laufe der Schwellung, um dann später, im Zustand der Embryoentwicklung, plötzlich abzunehmen.

Besonders auffallend ist das plötzliche Ansteigen des freien Cholin-Niveaus und die sprunghafte Abnahme des Lipoid-Phosphat-Gehalts in dem vom Standpunkt der Stoffwechselphysiologie dynamischen Zustand der Keimentwicklung. Bei einer ungefähr 80%-igen Abnahme des Lezithins, ist die Menge des infolge der Cholinesterase-Tätigkeit freigewordenen Cholins wesentlich geringer, woraus gefolgert werden kann, dass dasselbe teils weiter oxydiert, teils assoziiert, was auch aus seiner Reaktionsbereitschaft und seinem alkalischen Charakter hervorgeht. Die Abnahme des Lipoidphosphats deutet auf eine Belebung im Phosphatstoffwechsel, was vom Standpunkt des biologischen Reizes gut mit dem dynamischen Stoffwechselzustand der Hirnfunktion und der Nerventätigkeit verglichen werden kann.

Wir sind der Ansicht, dass die Wärmewirkung in einer partiellen und vorübergehenden Gelifizierung der eiweißhaltigen Strukturen, Ultrastrukturen, Grenzhäutchen unmittelbar zur Geltung kommt, was in der Veränderung des Brechungsexponenten, der Leitungsfähigkeit und in der Wasser- und Ionpermeabilität des Plasmas zum Ausdruck gelangt. Die Wärmebehandlungen verhindern durch eine partielle Gelifizierung der Struktureiweise den Mechanismus der natürlichen Licht- bzw. Dunkelstimulation.

BÉLA POZSÁR, Budapest, V., Szalay u. 10—14., VI/38, Hungary.



# THE NATURAL VACUOLATION OF CHROMOPLASTS

N. I. GIMESI and B. I. POZSÁR

SCIENTIFIC LABORATORY OF THE UNIVERSITY BOTANICAL GARDENS, BUDAPEST (DIRECTOR: N. I. GIMESI)

(Received September 10, 1955)

## Summary

At the time of the maximum growth of the stamens of *Tinantia fugax* L. the chromoplasts of the stamen hairs vacuolate beside the rapid mobilisation of their starch content. The plastids to which carotenes impart a yellow colour vacuolate to treble their volume at the time of flowering. The quick change of volume takes place within a few hours and it is remarkable that the dimensions which arise in the wake of vacuolation, tally in order of magnitude. The increase of the sucrose content of plastids can be demonstrated on the basis of osazone reaction. The results of cytochemical examinations agree with the general conception on the translocation of carbohydrates occurring in the form of sucrose. With the progress of necrotic processes, taking place during flowering and deflorescence, the form and volume of plastids do not change any further. Moreover, these chromoplasts vacuolated under natural conditions are, in the same way as the normal plastids, not plasmolysable in hypertonic solutions. Both these features confirm our conception that the observed vacuolation is not of necrotic nature but is the result of the irreversible structural change taking place in the wake of the rapid starch mobilisation.

## Introduction

At the time of flowering of *Tinantia fugax* L. the chromoplasts in the stamen hairs vacuolate characteristically, i. e. swell in a vesicle-like way. KÜSTER [8, 11] considers this phenomenon as a necrotic change. He accounts for his conception by the fact that the size of plastids is considerably greater than the original size. The vacuolation of typical dimension and rhythm takes place at the same time in the whole flower and this phenomenon follows in any case an identical course; this earlier observation [5] shows that an organizational relation exists between the change of the structure of chromoplasts and the development growth of the flower or some of its parts.

From the data of KÜSTER [9, 10] it is also evident that in the course of vacuolation the chromoplasts swell to a definite size. FREY—WYSSLING [4] dealing with the necrotic changes of the function of the amyloplasts of boiled potato tubers has ascertained that the progress of the necrosis coordinates the rate of vacuolation, and according to the extent of deformation, the form and size of plastids vary within wide limits. The amyloplasts, swollen due to boiling, show markedly different forms, their volume decreases in hypertonic solution and increases again in a hypotonic one. On the strength of all these it can be stated that from the aspect of both form and function, the vacuolation of the chromo-

plasts — containing starch — of *Tinantia fugax* L. differs from the deformations having a necrotic character.

In the knowledge of the aforesaid the question has been raised what kind of processes are connected correlatively with the vacuolation of plastids — which vacuolation can be considered natural but is of a striking measure —, furthermore whether a causal connection may be ascertained. In the course of our studies we have extended our observations to the general questions of the development and organization of the flower, primarily from the aspect of physiology. The morphological changes were considered only as indicators from the point of view of organisational and physiological characterisation.

#### Materials and methods

The plastids of the stamens of *Tinantia fugax* L. have been examined with the fluorescent microscope, partly on the basis of their natural fluorescence and partly with the help of the fluorescence arises secondarily due to the adsorption of fluorescent vital dyes (rhodamine-B, berberine sulphate [2, 14, 15]. We have attempted to identify primarily the presence of carotenes, lipids, lipochromes by means of cytochemical methods [7]. The qualitative sugar content of plastids was ascertained with osazone, while the starch content was verified with the help of the well-known iodine-starch. For the identification of the latter polarizing microscopy has also been employed [3]. The natural vacuolation of chromoplasts, representing the rate of the change of the diameter of plastids, has been studied in its relation to the growth in length of the stamen.

#### Observation in respect to correlation

According to our observations it was found that in the early state of the development of the flower the chromoplasts of the stamen of *Tinantia fugax* L.

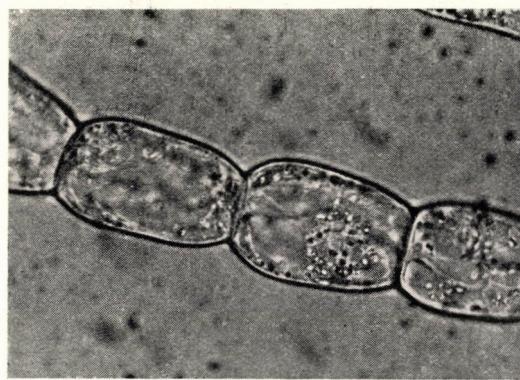


Fig. 1. Chloroplast of the stamen hairs of *Tinantia fugax* L.  $\times 600$

show a vivid red fluorescence under the fluorescent microscope, which proves the presence of chlorophyll (Fig. 1). The green colour characteristic of chlorophyll is, because of the limit of perception, hardly observable with the naked eye. In this

stage of flower development the plastids are of regular size ( $3 \mu$ ), and as a rule contain several granules of starch. Even with vital stain the presence of vacuoles cannot be demonstrated. Accordingly in the early stage of the organisation of the flower the colourless proplastids developing in the stamen hairs of *Tinantia fugax* L. are transformed into chloroplasts. Simultaneously with the increase of the



Fig. 2. (Leuco)amyloplasts of the stamen hairs of *Tinantia fugax* L.  $\times 800$



Fig. 3. Chromoplasts of the stamen hairs of *Tinantia fugax* L. during natural vacuolation.  $\times 1200$

starch content of plastids the fluorescence characteristic of chlorophyll disappears: thus they are transformed into true leucoplastids or, by their starch content, into amiloplastids (Fig. 2).

At the beginning of the organisation of the anther, essentially up to the first phase of the reduction division (meiosis) inclusive, carotenes accumulate in the leucoplasts' stroma (Fig. 3). After the period which can be characterized with the first phase of the reduction division, no carotene accumulation could be observed. An observation worth mentioning is that the starch content of amylo-

plasts remains unchanged in the course of their transformation into chromoplasts. In the first and second stage of the reduction division taking place in the anther, the stamen has not yet begun its intense growth, thus the pollen is sessile. In the amyloplasts of the stamen hairs in particular in those of the apical cells, which are yellow from the carotenoids, the mobilisation of starch sets in when the organisation of the exines of tetrads begins in the anther. By this time the charac-



Fig. 4. Chromoplasts of the stamen hairs of *Tinantia fugax* L. after the termination of the natural vacuolation.  $\times 1200$

**Table 1**  
*Connection between the growth in length of the stamen and the natural vacuolation of chromoplasts*

Number of days	Hours	Development of flower	Length of stamen in mm	Diameter of chromoplasts in $\mu$	Divergence of measurements S	Mean error of mean value $S_x$
1	8		1,2	2,83	$\pm 0,32$	0,09
2	8	flower organisa-tion	1,8	3,09	$\pm 0,31$	0,05
	12		2,1	4,23	$\pm 0,36$	0,07
	18		2,5	4,41	$\pm 0,32$	0,05
	20		2,6	4,05	$\pm 0,19$	0,02
3	4	opening of flowers	3,7	9,63	$\pm 0,58$	0,08
	6		4,0	10,35	$\pm 0,71$	0,04
	8	efflorescence	4,1	9,90	$\pm 0,68$	0,06
	12		4,6	9,87	$\pm 0,31$	0,09
4	18		4,9	9,45	$\pm 0,49$	0,05
	8	deflorescence	4,8	9,37	$\pm 0,51$	0,05

teristic red colouring appears in the basal part of the petal-like bracts. Simultaneously with the rapid mobilisation of the starch the chromoplasts vacuolate characteristically, which means they swell to the treble of their original volume (Table 1, Fig. 4). During the appearance of vacuolation the sucrose content of plastids also increases notably.

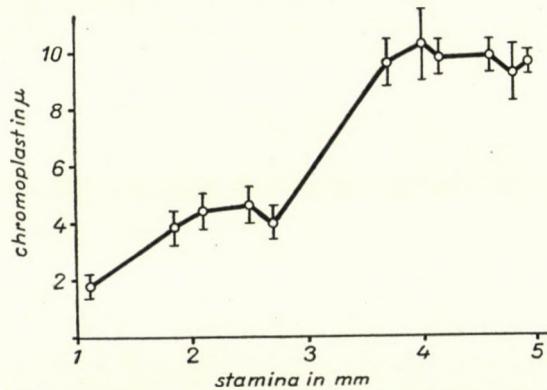


Fig. 5. Correlative connection between the growth in length of the stamen of *Tinantia fugax* L. and the natural vacuolation of the chromoplasts of the stamen hairs

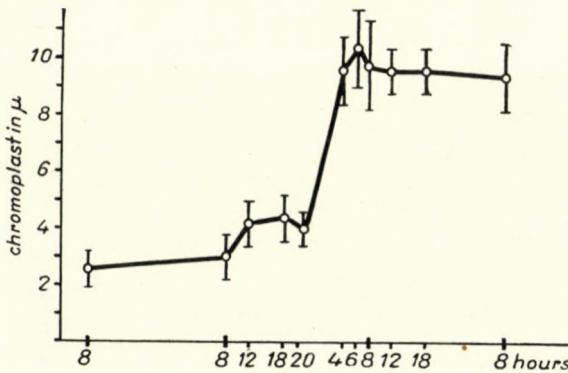


Fig. 6. Rate of the natural vacuolation of the chromoplasts of *Tinantia fugax* L. at the time of the opening of flowers

The maximum of the growth in length of stamens coincides with the rapid breakdown of the starch content of chromoplasts and the period of their typical vacuolation. The correlative connection is clearly thrown into relief by the fact that at the time of the maximum growth in length of the stamen the vacuolation of chromoplasts takes place in a few hours (Table 1, Fig. 5).

The volume of the cells of the stamen hairs decreases in the plasmolysis but the volume of the plastids swollen to vesicles remains unchanged. At variance

with this the plastids denatured by boiling are plasmolysable with hypertonic solutions. The coincidence in time of the growth in length of the stamen and of the vacuolation of chromoplasts renders the metabolic and structural correlations probable.

### Data concerning correlation

At the outset of the development the proplastids of the stamen hairs are transformed into chromoplasts, which fact is undoubtedly corroborated by their natural red fluorescence [13, 15, 16]. In the course of their further development the plastids lose the fluorescence characteristic of chlorophyll and because of their subsequent starch content they are transformed into amyloplasts. On the basis of the negligible and decreasing chlorophyll content of plastids it would appear probable that the starch merely accumulates and originates in them only in a very slight degree, which phenomenon is accounted for also by their isolation from light. On the strength of the aforesaid the plastids of the stamen hairs, containing starch, can be considered as storing organs from the viewpoint of metabolism.

According to our observations the vacuolation of amyloplasts coloured yellow by carotenoids cannot be considered to be necrotic. This statement is borne out by several arguments :

1. The dimensions arisen after vacuolation are characteristic, regular and in a definite order of magnitude. The constant character of the form shows a contrast to the deformations under necrotic conditions [4].
2. Whilst artificially denatured amyloplasts are plasmolysable in hypertonic solutions, the chromoplasts vacuolating under natural conditions are not.
3. The natural vacuolation of plastids takes place simultaneously with the rapid mobilisation of the starch content of the same.
4. During the necrotic processes (wilting of certain flower organs) progressing in the wake of fecundation, the dimensions and form of chromoplasts do not change.

On the basis of these observations we consider the vacuolation of plastids as a natural process and account for it by the fact that owing to the rapid mobilisation of starch taking place at the time of the longitudinal growth of the stamen, the sucrose issues forth at a slower rate from the plastids than is the rate at which it arises in them. From the aspect of plasmolysability the chromoplast membranes of *Tinantia fugax* L. differing as to structure and function from the cytoplasm cell membranes and from the membranes of amyloplasts denatured by boiling, behave in the same way as the normally functioning plastids. It is likely that if the vacuolation were the result of the degeneration of the organ the extent and rate of vacuolation would not be completed with the longitudinal growth of the stamen, but would continue more considerably in the state of deflores-

cence. The absence of the degeneration of form and volume speaks in favour of the consideration that this process is a natural structural — functional change. Accordingly, the process of vacuolation should be preferably interpreted in such a way that the intense metabolism produced in the wake of the longitudinal growth of the stamen brings about a carbon hydrate deficiency in the surrounding tissues, which the chromo-(amylo-)plasts, functioning as storing organs, equalize by the mobilization of starch [12]. According to this conception, the starch polymerising-hydrolysing activity of plastids would be governed by the functioning plasma, as it has already been assumed on the basis of our earlier results [6].

The quick rate of the increase of the volume in the plastid's vacuoles may be regarded as the result of the mobilisation of starch, which is also accounted for by the increasing water absorbing capacity. Together with this explanation based on the function, also the irreversible modification of plastids or of their cell membranes should be considered as likely.

#### REFERENCES

1. BAUER, K. H. (1950) Die organische Analyse. Akad. Verl., Leipzig.
2. DRAWERT, H. (1955) Vitale Fluorochromierung der Mikrosomen mit Janusgrün, Nilblausulphat und Berberinsulphat. *Ber. deutsch. bot. Ges.*, **66**, 134—150.
3. DÜVEL, D. (1952) Polarisationsoptische Chloroplastenuntersuchungen an *Impatiens parviflora*. *Protoplasma*, **41**, 446—451.
4. FREY-WYSSLING, A. (1952) Feinbau der Membran gequollener Stärkekörner. *Experientia*, **8**, 101—102.
5. GIMESI, N. (1948) A *Tinantia fugax* L. porzószőreinek élettana. Physiology of the stamen hairs of *Tinantia fugax* L. *Bot. Közl.*, **45**, 151. (Abstract in Hungarian.)
6. GIMESI, N., POZSÁR, B. (1954) Examination of chloroplast surviving in the necrotic cytoplasm of *Helodea canadensis*. The effect of manganous sulphate on the starch synthesis and mobilisation of the plastids. *Acta Biol. Hung.*, **5**, 67—78.
7. GLICK, D. (1949) Techniques of histo- and cytochemistry. Interscience, New York.
8. KÜSTER, E. (1937) Pathologie der Pflanzenzelle. II. Pathologie der Plastiden. Borntraeger, Berlin.
9. KÜSTER, E. (1950) Über die Staminalhaare der *Tinantia fugax*. *Ber. deutsch. bot. Ges.*, **63**, 99—102.
10. KÜSTER, E. (1950) Über die Lagerung der Chromoplasten. (Beobachtungen an pflanzlichen Haaren.) *Protoplasma*, **39**, 282—289.
11. KÜSTER, E. (1951) Die Pflanzenzelle. Fischer, Jena.
12. POZSÁR, B. (1955) A phloem szénhidrát transzlokációja, különös tekintettel az előkődő növényekre. The translocation of the phloem-carbon hydrate with special regard to parasitic plants. *Bot. Közl.*, **46**, 31—37. (In Hungarian, English and Russian summary.)
13. REZENDE-PINTO, M. C. DE (1952) Über die Genese und die Struktur der Chloroplasten bei den höheren Pflanzen. Ergebnisse und Probleme. *Protoplasma*, **41**, 336—342.
14. RIES, E. (1938) Grundriss der Histophysiologie. Akad. Verl., Leipzig.
15. STRUGGER, S. (1949) Praktikum der Zell- und Gewebephysiologie der Pflanze. Springer, Berlin.
16. STRUGGER, S. (1954) Die Proplastiden in den jungen Blättern von *Agapanthus umbellatus* L'HÉRIT. *Protoplasma*, **43**, 120—173.

## ЕСТЕСТВЕННАЯ ВАКУОЛИЗАЦИЯ ХРОМОПЛАСТОВ

Во время большого максимального роста тычиночной нити *Tinantia fugax* L. в хромопластах волосок тычиночной нити наблюдается — при быстрой мобилизации их содержания крахмала — вакуолизация. Во время распускания цветов, пластиды — окрашенные каротиноидами в желтый цвет — набухают на трехкратное своего первоначального объема. Быстрое изменение объема осуществляется в течение нескольких часов и одновременно по всему цветку, причем паразитальным является то, что размеры, возникшие вследствие вакуолизации, совпадают также и в отношении порядка величины. Повышение содержания сахараозы в пластидах можно выявить при помощи осажновой реакции. Результаты цитохимических исследований подтверждают общепринятое мнение о транслокации углеводов в виде сахараозы. В ходе прогрессии некротических процессов, наблюдаемых во время распускания цветков и отцветения, форма и объем пластидов больше не изменяются. Кроме того, пластиды, вакуолизированные при естественных условиях, не поддаются плазмолизации в гипертонических растворах, точно также, как и правильно действующие пластиды. Данные две характеристики подтверждают мнение авторов, согласно которому наблюдаемая вакуолизация не имеет некротического характера, а является следствием необратимого изменения структуры, происходящего из-за быстрой мобилизации крахмала.

## NATÜRLICHE VAKUOLISIERUNG DER CHROMO PLASTEN

Zur Zeit des Wachstum-Maximums der Staubfäden der *Tinantia fugax* L. vakuolisieren die Chromoplasten der Staubfädenhaare bei gleichzeitiger schneller Mobilisierung des Stärkegehalts. Die von den Karotinoiden gelben Plastiden schwellen zur Zeit der Blüte auf das Dreifache ihres ursprünglichen Volumens. Die schnelle Veränderung im Volumen erfolgt innerhalb einiger Stunden gleichzeitig in der ganzen Blume. Auffallend ist, dass die infolge der Vakuolisierung entstandenen Massen auch der Größe nach übereinstimmen. Die Zunahme des Rohrzuckergehalts in den Plastiden kann mit Hilfe der Osazon-Reaktion nachgewiesen werden. Die Resultate der zytochemischen Untersuchungen stimmen mit der allgemeinen Auffassung bezüglich der in Form von Saccharose vor sich gehenden Translokation der Kohlenhydrate überein. Im Laufe der fortschreitendennekrotischen Prozesse, die zur Blütezeit und während des Verblühens auftreten, zeigt sich bei den Plastiden in Form und Volumen keine weitere Veränderung. Überdies sind die unter natürlichen Bedingungen vakuolisierten Plastiden in hypertönischen Lösungen ebensowenig plasmolierbar, wie die regelmässig funktionierenden Plastiden. Durch diese beiden Charakterzüge wird unsere Auffassung bestätigt, wonach die beobachtete Vakuolisierung nichtnekrotischer Art, sondern eine Folge der durch die schnelle Mobilisierung der Stärke verursachten irreversiblen Strukturveränderung ist.

BÉLA POZSÁR, Budapest, V., Szalay u. 10—14., VI/38, Hungary.

# DIE ROLLE DER WURZEL IN DEN FRÜHPHASEN DER ENTWICKLUNG

V. FRENYÓ

PFLANZENPHYSIOLOGISCHES INSTITUT DER EÖTVÖS LORÁND UNIVERSITÄT, BUDAPEST  
(VORSTAND: V. FRENYÓ)

(Eingegangen am 10. September 1955)

## Zusammenfassung

Der Verfasser beschreibt gewisse Teilergebnisse seiner Forschungen über die Rolle und die Aufgabe der Wurzel. Als Testobjekt wurden die Keimpflanzen von *Sinapis alba* verwendet. Das Wachstum der oberirdischen Organe hing in diesem Fall noch nicht von den in der Umgebung befindlichen Nährstoffen ab, sondern das Wachstum des Hypokotyls und der Wurzel erfolgte zu Lasten der Reservestoffe des Keimblattes. Der Verfasser stellt fest, dass sich die biologische Aufgabe der Wurzel nicht auf die Aufnahme und Weiterleitung der Nahrung beschränkt, sondern, dass die Wurzel auch solche Stoffe synthetisiert, die das Wachstum des Stengels bzw. des Hypokotyls aktivieren. Ohne Wurzel verlangsamt sich das Wachstum des Hypokotyls — selbst im Falle der besten Wasserversorgung — in bedeutendem Masse, obwohl das Hypokotyl jetzt für sich allein die im Keimblatt aufgespeicherten Stoffe verbraucht und nicht mit der Wurzel konkurriert muss. Es ist nicht zu bezweifeln, dass die Wurzel der Keimpflanze — auf irgendeine Weise — den von seiten des Hypokotyls vor sich gehenden Verbrauch der Stoffe des Keimblattes fördert. All dies hängt in hohem Grade von den Oxydationsvorgängen in der Wurzel ab. Das Hypokotyl der Keimpflanze mit in der Aeration gehinderter Wurzel wächst bedeutend langsamer als das Hypokotyl solcher Pflanzen, deren Wurzel mit der Luft entsprechend in Berührung kommen konnte. Obwohl das Hypokotyl beider Serien mit der Luft gleichmäßig in Berührung kam, verwendete die Keimpflanze nur durch Vermittlung der Wurzel die Stoffe des Keimblattes. Im Laufe dieser Untersuchungen konnte nicht angenommen werden, dass die schlecht durchlüfteten Wurzeln vielleicht im Wege toxischer Stoffwechsel-Produkte das Wachstum des Hypokotyls gehemmt hätten.

In dem sog. Blutungssaft der Wurzel konnte die Anwesenheit eines Faktors von Auxin-Wirkung nachgewiesen werden. Dieser Faktor zeigte nicht die für  $\beta$ -Indolylessigsäure bezeichnende Farbenreaktion.

Der Blutungssaft der Wurzel übte auf das Hypokotyl der ihrer Wurzel beraubten *Sinapis*-Keimpflanzen keine das Wachstum anregende Wirkung aus. Das mit der Wurzel künstlich, auf humoralem Wege verbundene Hypokotyl zeigte gleichfalls ein nachteiliges Wachstum. Die von der Wurzel ausgeübte, das Wachstum anregende Wirkung dringt also nicht durch die frische Wundfläche und gelangt nicht durch die Tracheen nach oben. Den Anzeichen nach ist es die durch das Plasma der lebenden Zellen dringende und so vor sich gehende Stoffmigration, die den aktivierenden Faktor aus der Wurzel der Keimpflanze in das Hypokotyl gelangen lässt.

Ausser der Wurzel nehmen auch das Keimblatt und die Stengelspitze an der Aktivierung des im Dunkeln vor sich gehenden Wachstums des Hypokotyls teil. Die Organe wirken also zusammen, doch unstreitig ist es die Wurzel, durch die die Wachstumsgeschwindigkeit des Hypokotyls am intensivsten beeinflusst wird.

## Einleitung

Heute bedarf der Umstand schon keiner gesonderten Erklärung, wonach sich die Aufgabe der Wurzel nicht auf die Aufnahme des Wassers und der Mineralstoffe beschränkt, sondern dass diese auch an der Umwandlung der Stoffe teilnimmt, ferner solche physiologisch sehr aktive Stoffe synthetisiert, die zur

Entwicklung der oberirdischen Organe notwendig sind [8, 9, 11, 13, 23, 24, 37, 38, 39, 42]. Einige Forscher sind der Ansicht, dass die Wurzel Nukleinsäuren bzw. Nukleinderivate in den Stengel gelangen lässt. Die Nukleinsäuren und ihre Derivate erfüllen bekanntlich eine sehr wichtige Aufgabe in der Eiweissynthese, in der Entstehung der Plasmastrukturen und in der Zellteilung [4, 36]. Diese Ansicht wird u. a. auch durch die Arbeit von CELJNIKER [6] bestätigt, der zur Feststellung gelangt, dass der Rhythmus in Wachstum der Bäume mit dem Nukleoproteiden- bzw. mit dem Nukleinsäuren-Stoffwechsel der Vegetationsspitze in Verbindung steht. Die Anhäufung der Nukleinsäuren regt den Prozess des Wachstums an, der parallel mit der Abnahme der Nukleinsäuren immer langsamer wird.

Es ist anzunehmen, dass sich in den Wurzeln eine intensive Nukleinsäuren-Synthese vollzieht, da die meristematischen Gewebe des Wurzelsystems — im Vergleich zum Gewicht des ganzen Organs — eine bedeutend grössere Masse darstellen als im Falle des Sprosses. Auf Grund der Untersuchungen von DITTMER [10], POŁAPOV, MARÓTI [25], KOLESNIKOV berechnete SABININ, dass bei den Sprösslingen des Apfelbaums 10% des Wurzelgewichts auf den meristematischen Teil entfällt. Die Wurzel verfügt also über die ganz aussergewöhnliche Fähigkeit ein Meristem hervorzubringen. Diese Fähigkeit geht zum Grossteil von der Wurzel selbst aus und ist ziemlich unabhängig von den übrigen Teilen der Pflanze. Wir wissen, dass viele Arten von Wurzeln fast unbegrenzt »in vitro« gezüchtet werden können [5, 7, 20, 26, 40, 41] und nur bei wenigen Pflanzen führte die künstliche Züchtung zu keinem Erfolg [1].

Gerade umgekehrt ist die Lage im Falle der Stengelspitzen, die im allgemeinen in künstlichen Kulturen nicht gezüchtet werden können. Eine Ausnahme bilden scheinbar *Asparagus* und *Cuscuta* [27, 28, 29], doch können diese Ausnahmen im Endresultat nichts an der Richtigkeit der Ansicht bezüglich der Rolle der Wurzel ändern. Das Wachstum der Kultur beschleunigt sich nämlich auf das drei- bis vierfache, wenn sich auf dem *Asparagus*-Explantat Wurzeln regenerieren. Im Falle von *Cuscuta* hingegen ist die Rolle der Wurzel, infolge der parasitären Lebensweise, ohnehin minder wichtig, weshalb diese Pflanze nicht in eine Parallelle mit den Pflanzen gebracht werden kann, die über entwickelte Wurzeln verfügen.

Neben den Nukleinsäuren bzw. deren Derivaten kann auch an die auxinartigen Wirkstoffe gedacht werden, mit deren Hilfe die Wurzel fähig ist, das Wachstum des Sprosses zu regulieren. So wurde z. B. von BOYSEN-JENSEN [3] in der Wurzel Auxin nachgewiesen. Besondere Beachtung verdient jedoch die Abhandlung von VAN OVERBEEK [35], in der berichtet wird, dass die Wurzelkultur auch noch nach der 34. Übertragung Auxin enthält, dass sogar der Auxingehalt der 20. Subkultur bedeutend grösser war als der der ersten Kultur. Nach den Untersuchungen von SÖDING [31] bildet sich der Auxingehalt der künstlich gezüchteten Wurzeln aus dem Nährboden und nicht aus der ursprünglichen

Wurzelspitze. Auch die Untersuchungen von NAGAO [21] weisen darauf hin, dass die von den übrigen Teilen der Pflanze isolierte Wurzelspitze fähig ist, Wuchsstoffe zu produzieren. Ein Teil der Untersuchungen bestätigt also die Annahme, wonach die Wurzel gewisse aktivierende Stoffe (z. B. Auxin) bilden kann.

HITCHCOCK, ZIMMERMANN [17] und SKOOG [30] beschäftigten sich mir der Frage, wie sich das Auxin in der Wurzel bewegt und gelangten zur Ansicht, dass das an die Wurzeln abgegebene Auxin mit dem Transpirationsstrom auf passive Weise in der Wurzel bewegt wird. Interessant ist auch die Feststellung von LAIBACH und FISCHNICK [19], wonach in dem Blutungssaft vieler Wurzeln eine grosse Menge von Auxin anzutreffen ist. Ihrer Ansicht nach weist dieser Umstand darauf hin, dass das Auxin auch in das Xylem gelenkt wird. Auch die Experimentalangabe von JAKOBS [18] widerspricht nicht der obigen Feststellung. Demnach leiten die aus dem Hypokotyl von *Phaseolus* geschnittenen Scheiben das künstlich zugeführte Auxin in die Richtung der Wurzel weiter. Diese Polarität kommt hauptsächlich in der Nähe des Spitzenteils zur Geltung, während sie bei der Basis des Hypokotyls, also in dem der Wurzel zu fallenden Teil, nicht in dem Masse ausdrücklich ist. JAKOBS fügt noch hinzu, dass in bezug auf das diffusible Auxin in keinem Teil des Hypokotyls, zu keinem Zeitpunkt eine Polarität besteht.

Unter den physiologischen Wirkstoffen der Wurzel können die die SH-Gruppe enthaltenden und anderweitigen Schwefelverbindungen ein gewisses Interesse beanspruchen. Nach der mündlichen Mitteilung von FEJÉR war es möglich, in dem Blutungssaft der Maiswurzel Spuren von Glutathion nachzuweisen. HAMMETT [16] machte die Erfahrung, dass die die SH-Gruppe enthaltenden Verbindungen einen gewissen Einfluss auf die Zellteilung ausüben, bzw. Bleisalz von sehr geringer Konzentration in der die Wurzeln umgebenden Lösung die Mitose der Spitze unterbindet. Das Blei dringt in die Zellen ein und tritt wahrscheinlich mit dem reduzierten Glutathion in Verbindung. Im Laufe eines anderen Versuches liess der Forscher Zystein, Zystin und andere organische Schwefelverbindungen in die Nährlösung gelangen, wodurch sich die Häufigkeit der Mitosen erhöhte. Übrigens wies BONNER [2] bereits vor ziemlich langer Zeit darauf hin, dass die isolierten Wurzeln zur Synthesierung des Biotins fähig sind. Diese Schwefel enthaltende Verbindung ist einer der Faktoren, die das Wachstum des Stengels regulieren. Vermutlich dürfte es sich auch bei dem von WENT [38] als Kaulokalin bezeichneten, hypothetischen stengelbildenden Stoff um eine Kombination der oben angeführten aktivierenden Stoffe handeln.

Bereits auf Grund der bisher beschriebenen wenigen Angaben kann mit Recht vermutet werden, dass die Aufgabe der Wurzel im Leben der Pflanzen sehr vielseitig ist. Besonders interessant ist der Einfluss, den sie auf das Wachstum, auf die Entwicklung des Sprosses bzw. aus dessen Organisation ausübt.

### Material und Methodik

Für die Zwecke unserer Untersuchungen erwies sich die Keimpflanze des weissen Senfs (*Sinapis alba* L.) am geeignetsten. Sie entwickelt sich schnell, ist ziemlich klein und kann deshalb auf einem kleinen Raum in grosser Anzahl gezüchtet werden. Sehr vorteilhaft ist ferner die Eigenschaft des Senfkorns, dass seine Schale bei Befeuchtung schleimig wird, was zur Folge hat, dass das Senfkorn in jeder Lage, an jeder Fläche anhaftet und die sich entwickelnde Keimpflanze ohne jede äussere Bindung nach Belieben orientiert werden kann.

Die Keimpflanzen wurden in einem dunsterfüllten, dunklen Raum, auf vertikal gelagerten, mit feuchtem Filterpapier überzogenen Glasplättchen oder auf in Eprouetten gelegten Glasleisten gezüchtet. Die der Wurzel beraubten Exemplare wurden gewöhnlich in eine am Boden der Eprouvette befindliche  $1\frac{1}{2}$  cm hohe Wasserschicht gestellt, besonders wenn es sich um kurze Zeit beanspruchende Versuche handelte. Die von uns verwendeten Keimpflanzen erhielten gewöhnlich keine Nahrung von der Umgebung, bloss Wasser, so dass sie auf ihre eigenen Reserven angewiesen waren. Nur in Ausnahmsfällen wurden die Pflanzen in Erde gezüchtet. Die Dauer der Versuche wurde mit den Eigenstoffen der Pflanzen stets in Einklang gebracht. Auch damit wurde eine Verminderung der den Versuch beeinflussenden Faktoren bezweckt.

### Der Einfluss von Verstümmelungen auf die Entwicklung der Keimpflanze

In dieser Versuchsserie wurden folgende Varianten verwendet: unverstümmelte Keimpflanze ( $a_1$ ); wurzellose Keimpflanze ( $a_2$ ); Keimpflanze ohne Keimblatt ( $b_1$ ); dieselbe Variante ohne Wurzel ( $b_2$ ); Keimpflanze ohne Stengel spitze ( $c_1$ ); dieselbe Variante ohne Wurzel ( $c_2$ ); dekapitierte Keimpflanze ( $d_1$ ); dieselbe Variante ohne Wurzel ( $d_2$ ). Abb. 1 zeigt die verwendeten Varianten,

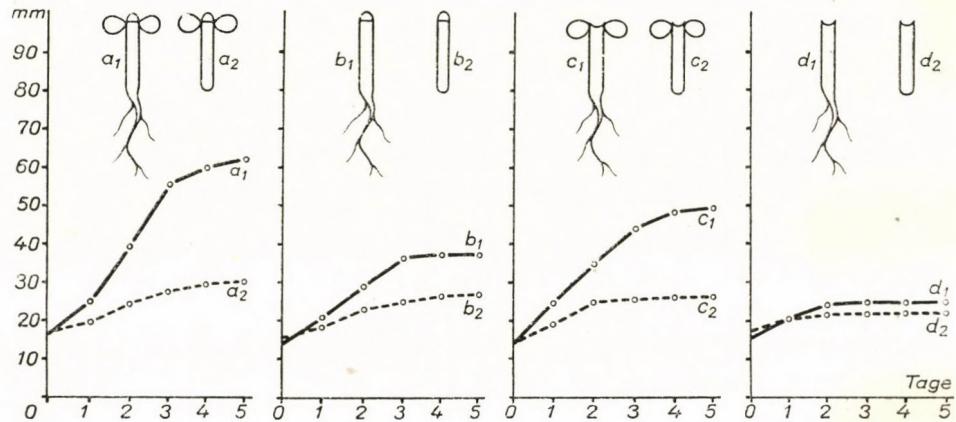


Abb. 1. Die Wirkung der Verstümmelungen auf das Wachstum des Hypokotyls. — Die Zahlen entlang der Abszissenachse der Diagramme bezeichnen die seit dem Eingriff verflossenen Tage. Entlang der Ordinatenachse kann das Wachstum der Hypokotyle, ihre jeweilige Länge, abgelesen werden

ebenda sind auch die Ergebnisse der einzelnen Versuche durch entsprechende Graphikone veranschaulicht.

Es wurden stets zwei Gegensätze, Exemplare mit und ohne Wurzel, einander gegenübergestellt. Nach Entfernung der Stengel spitze bzw. der Keimblätter wurde untersucht, in welchem Masse das Wachstum des Hypokotyls

durch diese Organe beeinflusst wird, d. h. in welchem Masse sie mit der Wurzel zusammenwirken.

Die Diagramme der Abb. 1 entstanden auf Grund der Angaben der weiter unten folgenden Tabelle 1. Jeder Zahlenwert stellt den Durchschnitt von 30—50 Versuchspflanzen dar.

Tabelle 1

Wachstum des *Sinapis-Hypokotyls* im Dunkeln, nach verschiedenen Operationen

Anzahl der Tage nach dem Eingriff	Durchschnittliche Länge des Hypokotyls in mm							
	$a_1$	$a_2$	$b_1$	$b_2$	$c_1$	$c_2$	$d_1$	$d_2$
0 .....	16,3	16,8	14,8	15,7	15,0	15,1	16,6	17,9
1 .....	25,0	19,9	20,4	19,1	24,5	19,4	21,0	21,6
2 .....	39,6	23,9	28,7	23,0	35,0	25,0	24,1	22,3
3 .....	55,6	27,5	35,4	25,0	43,7	25,2	24,8	22,5
4 .....	60,0	29,3	36,2	26,6	48,1	26,5	24,8	22,5
5 .....	61,3	30,1	36,2	26,8	49,0	26,7	24,8	22,5
Wert des Wachstums	45 mm 276%	13,3 mm 79%	21,4 mm 145%	11,1 mm 71%	34,0 mm 226%	11,6 mm 77%	8,2 mm 49%	4,6 mm 26%

Wie aus der Tabelle ersichtlich, vermindert die Entfernung der Wurzel vor allem die Geschwindigkeit und das Mass des Wachstums. Am auffallendsten zeigt sich bei der Variante  $a_1 a_2$ , also bei der im übrigen unversehrten Keimpflanze, der Einfluss der Wurzel. Obwohl die Pflanzen der ihrer Wurzel beraubten ( $a_2$ ) Serie ausgiebig mit Wasser versehen wurden und auch ihre Turgeszenz sich nicht als geringer erwies als die der Kontrollserie ( $a_1$ ), zeigte sich dennoch ein gewaltiger Unterschied in der Wachstums geschwindigkeit des Hypokotyls. Am 5. Tage nach der Operation konnte bei dem Hypokotyl der unversehrten Pflanze ein 276%iges Wachstum im Vergleich zur ursprünglichen Länge festgestellt werden. Demgegenüber beträgt das Wachstum ohne Wurzel, doch bei Sicherstellung der übrigen Lebensbedingungen, nur 79%. Der Unterschied zwischen den beiden Werten ( $276 - 79 = 197\%$ ) zeigt deutlich den von der Wurzel auf das Wachstum ausgeübten Einfluss. Die Anwesenheit der Wurzel verursachte ein 197%iges Wachstum. Ein noch realeres Bild können wir von dieser Erscheinung gewinnen, wenn wir die zwischen den beiden Serien bestehende jeweilige Wachstumsdifferenz mit den Massen der gleichaltrigen Pflanzen der wurzellosen Serie vergleichen.

Bei der Variante  $b_1 b_2$  ist der Unterschied deshalb wesentlich geringer, weil schon das Fehlen der Keimblätter allein das Wachstum der mit Wurzel versehenen Exemplare vermindert. In diesem Falle wurde nämlich die Pflanze

des grössten Teils ihrer Nährstoffe beraubt. Ausserdem produziert auch das Keimblatt selbst das Wachstum fördernde, physiologisch aktivierende Stoffe. Diesbezüglich sind auch in der Fachliteratur Angaben zu finden [12, 15, 22, 33, 34].

Bekanntlich aktiviert auch die Stengelspitze die Geschwindigkeit des Wachstums, aber die Entfernung der Stengelspitze ( $c_1$ ) hemmt das Wachstum in viel geringerem Masse als die Entfernung der Wurzel ( $a_2$ ). In dem Wachstumprozess des Hypokotyls kommt die Zusammenwirkung der Wurzel, des Keimblattes und der Stengelspitze zur Geltung, doch fällt dabei der Wurzel offensichtlich eine wichtige Aufgabe zu, was besonders durch die Variante  $a_1 a_2$  bewiesen wird.

### Künstliche Vereinigung der Wurzel und des Hypokotyls

In einem dunklen Raum wurden bei  $25^\circ \text{C}$  in kleinen Tontöpfen zahlreiche *Sinapis*-Keimpflanzen gezüchtet. Nach ungefähr 3 Tagen, als die kleinen

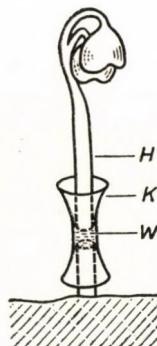


Abb. 2. Die Verbindung der Wurzel und des Hypokotyls (H) mit Hilfe einer trichterförmigen Kapillarröhre (K). Zwischen den Schnittflächen befindet sich eine Wasserschicht (W)

Pflanzen ein einige cm langes Hypokotyl entwickelten, wurde dieses jeweils über dem Wurzelhals abgeschnitten, dann mit Hilfe eines besonders geformten Glasröhrenglass abgeschnitten, dann mit Hilfe eines besonders geformten Glasröhrenglass wieder mit der Wurzel verbunden. Zwischen den beiden Teilen stellte ein Tropfen gewöhnliches Wasser die unmittelbare Verbindung her (Abb. 2). Ungefähr 50 auf diese Weise behandelten Pflanzen wurden ebenso viele nicht behandelte, also unversehrt belassene als Kontrolle gegenübergestellt. Beide Serien wurden unter Glassturz gehalten. Dies war nötig, um zu verhindern, dass die durch die Flüssigkeit geschaffene Verbindung durch die lebhafte Transpiration unterbrochen werde.

Tabelle 2 veranschaulicht die Ergebnisse dieser Versuchsserie. Die Abweichungen deuten auf den mittleren Fehler.

**Tabelle 2**  
*Das Wachstum im Dunkeln des mit der Wurzel durch Flüssigkeit verbundenen Hypokotyls*

Die nach der Vereinigung verflossenen Tage	Durchschnittliche Länge des Hypokotyls in mm	
	Behandelt	Nicht behandelt
0	14,9±2	15,2±2
1	20,6±2	25,9±3
2	25,0±3	41,8±3
3	28,2±3	56,2±5
4	30,3±3	61,4±5
5	30,8±3	62,7±5

Wie aus der Tabelle zu ersehen, ist das Wachstum des durch das in den Kapillarröhrchen befindliche Wasser mit der Wurzel verbundenen Hypokotyls viel geringer, als das der nicht behandelten Kontrollpflanze.

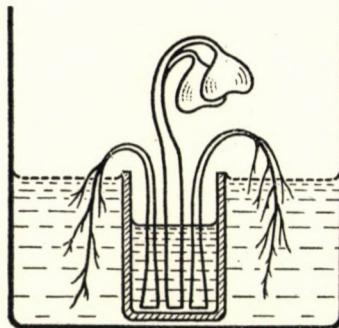


Abb. 3. Züchtung des Hypokotyls mit mehreren Wurzeln zusammen. In das innere kleine Gefäß wurden gewöhnlich acht Wurzeln neben das Hypokotyl gelegt

Das Resultat zeigt kaum eine Abweichung, wenn das Hypokotyl in dem sog. Blutungssaft der Wurzel oder aber je ein Hypokotyl mit mehreren Wurzeln zusammen, auf die in Abb. 3 gezeigte Weise gezüchtet wird.

Dieser Versuch gestattet die Folgerung, dass sich die von der Wurzel ausgehende stengelentwickelnde Wirkung in nennenswertem Masse nicht ausdrücklich auf humoralem Wege verbreitet, sondern eher eine im Plasma vor sich gehende Migration angenommen werden kann.

#### Der Einfluss der abweichenden Möglichkeiten in der Wasseraufnahme auf das Wachstum des Hypokotyls

Im weiteren Verlauf unserer Versuche erschien es angebracht zu untersuchen, ob der Unterschied, der sich im Wachstum des Hypokotyls sowohl bei

der mit Wurzel versehenen als auch bei der der Wurzel beraubten *Sinapis*-Keimpflanze zeigte, nicht durch eine ungünstige Wasserversorgung der wurzellosen Exemplare verursacht wird. Obwohl sich die Pflanzen einer jeden Variante in einer dunsterfüllten Umgebung befanden und jedes Exemplar für turgeszent befunden wurde, musste diese Frage einer Untersuchung unterzogen werden. Zweifellos ist die Wurzel, schon infolge der mit den Wurzelhaaren verbundenen grösseren Oberfläche zu einer intensiveren Wasseraufnahme geeignet, als das seiner Wurzel beraubte Hypokotyl. Hingegen ist es fraglich, ob bei solch kleinen Pflanzen, wie die im vorliegenden Fall verwendeten, ein gewisser Unterschied in der Intensität der Wasseraufnahme überhaupt in die Waagschale fällt.

Zur Klärung dieser Fragen wurden verschiedene Versuche durchgeführt. Vor allem wurde untersucht, ob die Aufnahme des aus dem dunstgefüllten Raum stammenden Wassers zum Wachstum des Hypokotyls genügt, oder ob eine unmittelbare Verbindung mit dem Wasser nötig ist.

Wie von Anfang an zu erwarten war, kam bei einer unmittelbaren Berührung mit dem Wasser die Wuchswirkung bei den wurzellosen Pflanzen besser zur Geltung als bei den mit Wurzel versehenen, denn die Wurzeln waren — mit Hilfe der Wurzelhaare — in der Lage, auch aus dem Dunstgehalt der Luft Wasser aufzunehmen, so dass für sie die unmittelbare Berührung mit dem Wasser nicht so sehr von entscheidender Wichtigkeit war. Hingegen lässt der Umstand, dass sich die wurzellosen Hypokotyle bei einer unmittelbaren Berührung mit dem Wasser bedeutend besser entwickelten als in dem dunstgefüllten Raum, darauf schliessen, dass diese operierten Pflanzen ihren Bedarf an Wasser vollständig befriedigen konnten. Die mit der Entfernung der Wurzel verbundene Wachstumsdifferenz kann also keine Folge der ungünstigen Wasserversorgung sein. Jedenfalls entfällt bei den wurzellosen Pflanzen der Wurzeldruck, ein Umstand, der bei der Erklärung der Wachstumsdifferenz mit in Erwägung gezogen werden kann.

Unsere Annahme, dass das Fehlen der Wurzel in erster Reihe nicht deshalb das Wachstum hemmt, weil das Hypokotyl nicht genügend Wasser aufnehmen kann, wird, besser noch als durch die bisherigen Ergebnisse, durch den folgenden Versuch bestätigt. An mehr als 100 *Sinapis*-Keimpflanzen, deren Wurzel vorangehend durch Eintauchen in siedendes Wasser abgetötet worden war, nahmen wir Messungen vor. Die zur Wasseraufnahme dienende Oberfläche blieb bei diesen Pflanzen genau so gross wie bei der Kontrollserie, da ja die Wurzeln nicht abgeschnitten wurden. Würde nun von seiten der Wurzel bloss die bessere Wasseraufnahme das Wachstum des Hypokotyls beeinflussen, müsste das Hypokotyl der Exemplare mit abgebrühter Wurzel genau so wachsen wie das der Kontrollpflanzen. Demgegenüber machten wir die Erfahrung, dass das Hypokotyl der Kontrollpflanzen, innerhalb von drei Tagen, im Vergleich zu den Ausgangsmassen, um 146,2% länger wurde, während die Exemplare mit abgebrühter Wurzel eine Wachstumszunahme von insgesamt 85,8% aufwiesen, also bedeutend zurückgeblieben waren. Daraus geht klar hervor, dass die Wurzel nicht nur als

wasseraufnehmende Oberfläche im Wachstum des Hypokotyls eine Rolle spielt. Mit entsprechenden, hier nicht ausführlich zu beschreibenden Versuchen kontrollierten wir, ob die Differenz nicht durch toxische Zerfallsprodukte oder durch den Entfall des Wurzeldrucks verursacht wurde.

Diese Versuche bestätigten immer mehr unsere Ansicht, dass das nachteilige Wachstum der wurzellosen Hypokotyle nicht eine Folge der ungünstigen Wasserversorgung ist.

#### Der Einfluss der Vermehrung der Seitenwurzeln auf das Wachstum des Hypokotyls und auf die Intensität der Wurzelblutung

Im weiteren Verlauf wurde die Frage untersucht, ob die grössere Wurzelmenge ein intensiveres Wachstum des Hypokotyls verursacht. Wenn wir die Wurzelspitze der 2—3tägigen *Sinapis*-Keimpflanze abschnitten, konnte gewöhnlich am 3. Tage nach der Operation die Bildung der Seitenwurzeln beobachtet werden. Auf einmal entstanden durchschnittlich 5 Seitenwurzeln. Nach 1—2 Tagen vermehrte sich ein wenig ihre Anzahl, so dass sich schliesslich im Laufe des ganzen Experiments durchschnittlich acht Seitenwurzeln entwickelten.

Wir beobachteten nun das Wachsen des Hypokotyls bei den Pflanzen mit Seitenwurzeln, indem wir sie mit Exemplaren verglichen, deren Wurzelspitze nicht abgeschnitten worden war. Unter den letzteren wurden besonders die Pflanzen ausgewählt, an deren Wurzel sich auch spontan keine Seitenwurzel gebildet hatte und diese wurden als Kontrolle verwendet. Als dritte Variante wurden solche *Sinapis*-Keimpflanzen in den Versuch eingestellt, deren Wurzelspitze, um das Entstehen der Seitenwurzeln zu fördern, zwar abgeschnitten, doch die erscheinende Seitenwurzel immer wieder entfernt wurde. Die Versuchspflanzen wurden im Dunkeln bei 24° C gezüchtet, doch im Laufe der täglich durchgeführten Beobachtungen waren die einzelnen Serien längere-kürzere Zeit dem Licht ausgesetzt, was, in Ermangelung entsprechender Vorrichtungen, nicht verhindert werden konnte.

Tabelle 3 veranschaulicht die Ergebnisse dieser Versuchsserie. Jede Zahlenangabe ist der Durchschnitt von 16 Messungen.

Die prozentualen Werte des erzielten Wachstumresultats beweisen, dass das Wachstum des Hypokotyls durch die Anwesenheit der Seitenwurzeln bis zu einem gewissen Grad gesteigert wird. Schnitten wir jedoch die Seitenwurzeln konsequent ab, so hemmte dieser Umstand ein wenig das Wachstum im Vergleich zu den Kontrollpflanzen.

Wir hielten es für natürlich, dass die grössere Wurzelmenge der sich verzweigenden Wurzeln mehr Flüssigkeit an den oberirdischen Pflanzenteil leitet als die sich nicht verzweigende Wurzel der Kontrollpflanzen. Nebenbei wurde auch diese Frage untersucht. Wir schnitten den Hypokotyl-Stengelteil oberhalb des Wurzelhalses ab, dann sammelten wir mit Hilfe von Kapillarröhrchen sechs

Stunden lang den beim Wurzelhals hervorquellenden Blutungssaft und massen denselben. Der Durchschnittswert wurde aus dem Blutungssaft von mehr als

**Tabelle 3**  
*Die Wirkung der Seitenwurzeln auf das Wachstum  
des Hypokotyls*

Datum	Durchschnittliche Länge des Hypokotyls in mm	
	Kontrolle	Exemplare mit Seitenwurzel
II. 15. ....	9,6	9,9
II. 16. ....	16,1	17,8
II. 17. ....	20,9	23,8
II. 18. ....	27,8	31,8
II. 19. ....	37,5	42,1
II. 20. ....	42,6	46,5
II. 22. ....	45,4	51,8
Wert des Wachstums	35,8 mm 372,9%	41,9 mm 423,2%

30 Pflanzen errechnet. Aus unseren Angaben geht hervor, dass die im Dunkeln, bei Zimmertemperatur gezüchteten, ungefähr einwöchigen *Sinapis*-Keimpflanzen, auf Individuen bezogen, innerhalb von 6 Stunden 3,8 mg Blutungssaft produzierten. Falls sich infolge des Abschneidens der Wurzelspitze auch die Seitenwurzeln entwickelten, so produzierte das Wurzelsystem einer jeden Pflanze innerhalb von 6 Stunden 5,6 mg Blutungssaft.

Man könnte annehmen, dass die beträchtliche Produktion von Blutungssaft und das intensivere Wachstum des Hypokotyls miteinander in Verbindung stehen. Wir stellten jedoch bereits früher fest, dass dem Wurzeldruck — im Falle solch kleiner Pflanzen — keine bedeutende Rolle zufällt. Das lebhaftere Wachstum des Hypokotyls kann also weder mit der grösseren Flüssigkeitsmenge noch mit der beträchtlicheren Wasserversorgung erklärt werden und zwar schon deshalb nicht, weil aus obigen Feststellungen hervorgeht, dass die sich nicht verzweigenden Wurzeln innerhalb von 6 Stunden 3,8 mg Flüssigkeit produzierten. Unter Bedingungen, wo mit einem mit der Transpiration verbundenen Wasserverlust kaum gerechnet werden muss, ist diese Flüssigkeitsmenge offenbar mehr als ausreichend, um sowohl den Wasserbedarf des Hypokotyls als auch den während des Wachstums sich ergebenden Bedarf zu befriedigen. Hingegen könnte angenommen werden, dass der Blutungssaft der Wurzel irgendeinen Wirkstoff enthält, der das Wachstum des Hypokotyls fördert. Mit diesem Wirkstoff muss gerechnet werden, obwohl er bei den früher [p. 167] besprochenen Versuchen nicht zur Geltung kam.

### Die Untersuchung des Blutungssafes

Die diesbezüglichen Versuche begannen damit, dass die abgeschnittenen Hypokotyle in die aus den Wurzeln gesammelte Blutungsflüssigkeit gestellt und ihr Wachstum mit dem solcher Hypokotyle verglichen wurde, die sich in gewöhnlichem Wasser befanden. Bei der Durchführung dieser Versuche bedeutet der Umstand eine grosse Schwierigkeit, dass die Sterilität des Blutungssafes nicht entsprechend gesichert werden kann. Die Notwendigkeit der Sterilität versuchten wir so zu umgehen, dass entweder nur kurze Zeit dauernde Versuche vorgenommen wurden oder, dass wir den Blutungssaf, in dem die wurzellosen Hypokotyle wuchsen, täglich erneuerten.

Zur Sammlung des Blutungssafes wurden mehrere Verfahren angewendet. Auf eine ausführliche Beschreibung dieser Verfahren kann hier nicht eingegangen werden. Da wir auch daran dachten, dass die Berührung mit der Luft die Zusammensetzung des Blutungssafes unter Umständen beeinflussen kann, wurde ein Teil der Flüssigkeit auch mit Ausschliessung der Luft eingesammelt. Das geschah auf folgende Weise. Auf die Wurzelstümpfe wurden die in Abb. 2 bereits gezeigten trichterartigen Kapillarröhrchen gezogen. In jedes dieser Röhrchen wurde ein Tropfen reines Paraffinöl getropft, der die Wundfläche des Wurzelstumpfes bedeckte. Als die Blutung einsetzte, schob die aus der Wurzel hervorquellende Flüssigkeit die Ölschicht vor sich her, wodurch die Berührung mit der Luft während der ganzen Zeit des Versuches ausgeschlossen war. Aus diesen Röhrchen wurde schliesslich die Flüssigkeit so in ein gemeinsames Gefäß gesammelt, dass wir mit einem sehr dünnen Röhrchen durch die Ölschicht zum Blutungssaf vordrangen und diesen mit dem Öl zusammen aus den einzelnen Wurzeln einsammelten.

In den auf verschiedene Weise gesammelten Blutungssäften verhielten sich die Hypokotyle ungefähr gleich, in keiner Flüssigkeit wuchsen sie ausgesprochen besser als im gewöhnlichen Leitungswasser. Manchmal verhinderte sogar der Blutungssaf der Wurzel in geringem Masse das Wachstum der Hypokotyle.

Alle diese Beobachtungen waren natürlich noch kein Beweis dafür, dass in dem Blutungssaf das Wachstum fördernde, physiologisch aktive Wirkstoffe überhaupt nicht vorhanden wären. Es ist leicht vorstellbar, dass das Sinapis-Hypokotyl nicht lebhaft genug auf diese Wirkstoffe reagiert. Ebendeshalb wurde zwecks gründlicheren Studiums der Frage der klassische *Arena*-Test in Anwendung gebracht. Das ursprüngliche Went-Verfahren erwies sich als schwerfällig, weshalb der bedeutend bequemere »Zylinder-Test« — ein wenig individuell umgestaltet — auf folgende Weise zur Anwendung gelangte.

Hafer-Keimpflanzen wurden im Dunkeln, in mit Gartenerde gefüllten Tontöpfen gezüchtet. Die Koleoptyle zeigten nach einigen Tagen eine Länge von 2—3 cm. Indem wir die Spitze und die Basis der Koleoptyle abschnitten, ent-

standen ungefähr 1 cm lange Zylinder, die innen hohl waren und nur ein Stückchen des primären Laubblattes enthielten. Der in dem Zylinder befindliche Rest des Laubblattes wurde mit Hilfe eines dünn gezogenen Glasstäbchens aus der Innenhöhle herausgeschoben. Gleichzeitig damit wurde der Koleoptylzylinder auf das Glasstäbchen gezogen. Im allgemeinen wurden 5—8 Koleoptylzylinder auf je ein Stäbchen gereiht. Die gemeinsame Länge der dicht aneinander geschobenen Zylinder wurde gemessen und das ganze in eine Eprouvette gelegt. In die Eprouvette wurden bei der einen Serie 2 ml gewöhnliches Wasser, bei der anderen ebensoviel Blutungssaft gegossen. Die Eprouvetten wurden mit Stöpseln verschlossen, die vorangehend mit Zellophan überzogen worden waren. Nachher wurden die Röhrchen horizontal so in eine sandgefüllte Schüssel gelegt, dass die in den Eprouvetten befindliche Flüssigkeit die auf das Glasstäbchen gezogenen Koleoptylzylinder gleichmäßig bedeckte. Der so hergestellte Test wurde im Dunkeln gehalten. Nach 24 Stunden wurden die Zylinder gemessen und zwischen den Serien Vergleiche angestellt.

Es wurden auch Serien hergestellt, in denen Heteroauxin-( $\beta$ -Indolylessigsäure) Lösung vorkam und zwar in einer Konzentration von  $10^{-3}$  bis  $10^{-7}$  Mol (Bezeichnung IAA). Tabelle 4 veranschaulicht die Resultate dieser Versuchsserie.

**Tabelle 4**  
*Das Wachstum der Koleoptylzylinder in verschiedenen Flüssigkeiten*

Flüssigkeit	Durchschnittslänge in mm (aus 30 St. errechnet)		Zunahme	
	bei Einstellung	nach 1 Tag	mm	%
Gewöhnliches Wasser .....	19,3	21,3	2,0	10,3
Blutungssaft .....	19,2	23,9	4,7	24,6
$10^{-3}$ M IAA .....	17,4	29	11,6	66,6
$10^{-4}$ M IAA .....	17,8	28	10,2	57,3
$10^{-5}$ M IAA .....	19,1	28,3	9,2	48,2
$10^{-6}$ M IAA .....	17,9	25	7,1	39,6
$10^{-7}$ M IAA .....	17,1	22,5	5,4	31,4

Diese Tabelle zeigt, dass die Koleoptylzylinder in dem Blutungssaft — im Vergleich zu der im Leitungswasser gehaltenen Serie — bedeutend länger wurden. In den Heteroauxinlösungen ist das Wachstum noch besonders auffallend. Man sieht, dass selbst noch die Indolessigsäure in einer Verdünnung von  $10^{-7}$  Mol wirksamer ist als der Blutungssaft. Die Wirkung des Blutungssafes dürfte also mit einer noch stärkeren Verdünnung des Heteroauxins, vielleicht mit einer solchen von  $10^{-8}$  Mol, gleichwertig sein. Diese Untersuchung

wurde jedoch bei der Einstellung der Versuchsserie versäumt, da man — im Vergleich zum Blutungssaft — mit einer solch hochgradigen Wirksamkeit des Heterauxins nicht gerechnet hatte.

Nebenbei sei noch bemerkt, dass es sich bei diesen Untersuchungen als überflüssig erwies, neben dem Wuchsstoff noch andere Lösungen, sei es eine Knop-, sei es eine Zuckerlösung, zu benützen. Ebenso entsprach auch die Kontrolle mit Leitungswasser in vollem Masse. Auch in Knop- oder Zuckerlösung wuchsen die Zylinder nicht besser, wenn kein physiologisch aktivierender Stoff anwesend war.

Aus den Angaben der Tabelle 4 ist zu ersehen, dass der Blutungssaft einen das Wachstum anregenden Stoff enthält, denn die Koleoptylzylinder wuchsen im Blutungssaft besser als im Leitungswasser. Es ist jedoch anzunehmen, dass der Koleoptylzylinder in dem Blutungssaft ganz einfach deshalb besser wächst als im gewöhnlichen Wasser, weil der Blutungssaft auch Nährstoffe enthalten kann. Um diese Möglichkeit auszuschliessen, wurde ein Versuch angewendet, bei dem der Blutungssaft mit frisch destilliertem peroxydfreiem Äther extrahiert wurde. Das Ätherextrakt enthielt schon keinen Nährstoff mehr, sondern nur einen Faktor auxinartiger Wirkung. Die Ätherphase des entsprechend lange Zeit geschüttelten und nachher mit Hilfe eines Scheidetrichters in zwei Phasen getrennten Blutungssafes wurde in einem gesonderten kleinen Gefäss, bei niedriger Temperatur eingetrocknet. Der nicht wahrnehmbare geringe Rest wurde mit derselben Menge von Wasser aufgenommen, aus welcher Menge von Blutungssaft dieser Stoff stammte. In dieser Lösung wuchsen die Koleoptylzylinder ungefähr auf dieselbe Weise wie in dem Blutungssaft. Es wurde auch eine Gegenprobe durchgeführt. Die wässrige Phase des bereits extrahierten Blutungssafes wurde für diesen Zweck von den letzten Spuren des Äthers befreit. In dieser Flüssigkeit wuchsen die Koleoptylzylinder nicht besser als im gewöhnlichen Wasser.

Aus all diesen Untersuchungen geht hervor, dass der Blutungssaft der Wurzel — zumindest im Falle der *Sinapis*-Keimpflanze — einen mit Äther extrahierbaren, das Wachstum anregenden Stoff enthält.

Wir machten den Versuch, diesen Stoff mit dem GORDON—WEBER [14] Verfahren chemisch zu identifizieren, doch die für die Indolessigsäure charakteristische Farbenreaktion trat selbst bei einer ungefähr zehnfachen Konzentration des Ätherextrakts nicht in Erscheinung.

#### Trypaflavin-Behandlung

Nach den Feststellungen von STICH [32] ist bekannt, dass das Trypaflavin und einige andere Akriderivate mit den Ribo- und den Desoxyribonukleinsäuren der Zellen eine stabile, salzartige Verbindung eingehen. Diese Wirkung des Trypaflavins ist selektiver Art, denn scheinbar zeigt es eine besondere

Affinität gegenüber den Nukleinsäuren des Zellkerns und des Zytosplasmas. Durch entsprechende Anwendung des Trypaflavins können also die Nukleinsäuren aus dem Stoffwechsel ausgeschaltet werden, ohne dass durch diesen Eingriff z. B. die Atmungsfermente toxisch beeinflusst würden.

Die Wurzel der im Dunkeln gezüchteten *Sinapis*-Keimpflanze wurde mit einer wässrigen Trypaflavinlösung in Berührung gebracht, wobei serienweise jeweils eine andere Konzentration zur Verwendung gelangte. Zur Kontrolle wurde — wie bei unseren Versuchen im allgemeinen — gewöhnliches Leitungswasser verwendet. Im weiteren teilen wir die wichtigeren Angaben der Untersuchung mit. Jede Angabe ist das Resultat von durchschnittlich 30 Messungen.

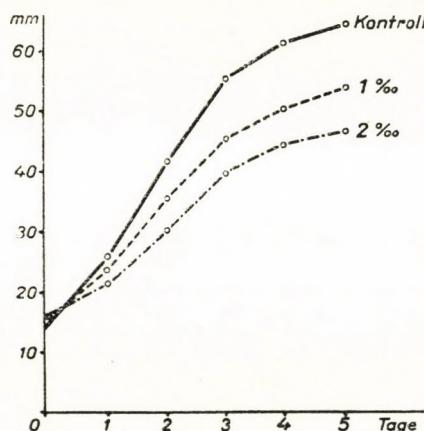


Abb. 4. Das Wachstum des Hypokotyls im Zusammenhang mit der Trypaflavin-Behandlung der Wurzeln. Der Abszisse entlang ist die Anzahl der Tage vermerkt, der Ordinate entlang hingegen die Länge des Hypokotyls

Abb. 4 zeigt das Resultat der Untersuchung. Wir sehen deutlich, dass das Wachstum des Hypokotyls durch die Trypaflavin-Behandlung der Wurzeln entschieden behindert wurde. Die von der Wurzel produzierten Nukleinsäuren sind offenbar auch bei dem Wachstum nötig, das mit der einfachen Zellverlängerung in Verbindung steht.

#### Einfluss geotropischer Zwangslagen auf die Korrelation der Wurzel und des Hypokotyls

In einem dunstgefüllten Raum und im Dunkeln wurden die *Sinapis*-Keimpflanzen auf mit Filterpapier bedeckten Glasplättchen so gezüchtet, dass die Wurzeln bei einer Serie normal nach unten wachsen konnten, während in der anderen Serie die Wurzel der Keimpflanze zu einem Wachstum in horizontaler Lage gezwungen war. Bei den Serien massen wir täglich sowohl das Wachstum der Wurzel als auch das des Hypokotyls.

Der Versuch wurde mit zahlreichen Pflanzen oftmals wiederholt. Von einer Veröffentlichung der komplizierten Fälle wird Abstand genommen und nur ein das Endresultat zeigendes Graphikon beigefügt (Abb. 5). Wir sehen, dass die in horizontale Richtung gezwungene Wurzel (gestrichelte Linie) im Wachstum ein wenig zurückbleibt. Im Zusammenhang damit wächst auch das Hypokotyl etwas langsamer als in der Kontrollserie, wo die Wurzeln ungehindert nach unten wachsen konnten. Die Hinderung im Wachstum der Wurzel wirkt sich also auch auf das Hypokotyl aus.

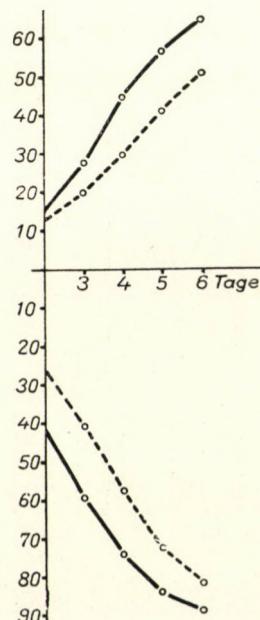


Abb. 5. Das Wachstum der Wurzel (unteres Diagramm) und des Hypokotyls (oberes Diagramm) der *Sinapis*-Keimpflanze, deren Wurzel sowohl in vertikaler als auch in horizontaler Lage gezüchtet wurde. Das gestrichelte Graphikon bezeichnet die Serie mit horizontal gezüchteter Wurzel

Nebenbei sei noch bemerkt, dass die Lebensfunktion der in geotropischer Zwangslage befindlichen Wurzel — im Vergleich zur normal gelagerten — bis zu einem gewissen Grad für abweichend befunden wurde. Wir machten nämlich die Erfahrung, dass die Produktion an Blutungssaft in der Wurzel sowie der von ihr ausgeübte Druck etwas geringer sind, als bei den normal gelagerten Wurzeln, wenn die Wurzel z. B. in inverser Lage fixiert wird.

Auf Grund dieser nebensächlichen Untersuchung können wir mit aller Wahrscheinlichkeit annehmen, dass sich das Hypokotyl der Pflanzen, deren Wurzel in eine vom geotropischen Standpunkt anomale Lage, z. B. zum horizontalen Wachstum, gezwungen wurde, sich nicht nur deshalb langsamer

entwickelte, weil die Wurzel kleiner blieb, sondern auch deshalb, weil in den Lebensvorgängen der Wurzel eine gewisse Störung eintritt.

### Die Bedeutung der Wurzelaeration im Wachstum des Hypokotyls

Wir sahen, dass in den Lebensfunktionen, in dem Stoffwechsel der Wurzel schon durch einen so einfachen Umstand, wie die Anordnung der geotropischen Lage der Wurzel, eine Veränderung, und zwar eine recht nachteilige verursacht

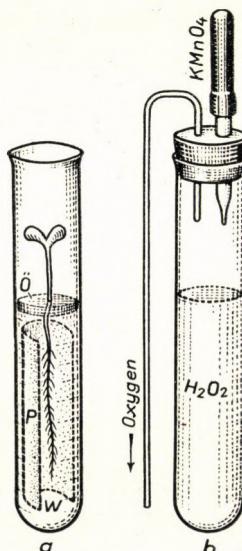


Abb. 6a — Die von der Luft abgeschlossene Wurzel der *Sinapis*-Keimpflanze. Die Wurzel der auf Filterpapier (P) gezüchteten Pflanze wird mit gekochtem Wasser (W) bedeckt und mit einer Ölschicht (Ö) von der Luft abgeschlossen. Die Kontrollserie wird mit Hilfe der auf b gezeigten Vorrichtung mit Sauerstoff versehen. Die Ausgangsröhre wird in gekochtes Wasser getaucht. Dann lassen wir Sauerstoff durch die Röhre strömen. b — Einfache, zur Darstellung von Sauerstoff dienende Vorrichtung. In mit je zwei Hyperol-Tabletten hergestellten Lösungen wird verdünntes Permanganat getropft

wird. Die im Stoffwechsel eingetretene Veränderung kommt auch im Wachstum des Stengels zum Ausdruck.

Es ergibt sich die Frage, ob bei einer tiefer gehenden Beeinflussung des Stoffwechsels in der Wurzel, die Veränderung auch in dem Stengelteil grösser wird? Im vorhinein konnte man annehmen, dass dies tatsächlich der Fall sein wird.

Einer der wichtigsten Vorgänge des Stoffwechsels ist die Atmung. Es ist also klar, dass der Einfluss derselben auch im Wachstum am intensivsten zur Geltung kommt. In diesem Versuch wurde die Atmung der Wurzel einzig im Wege der Aeration beeinflusst.

Die Skizzierung der den Einfluss der Aeration erforschenden Untersuchung ist sehr einfach. In der ersten Serie waren die Wurzeln der Keimpflanzen der Berührung durch die Luft gut ausgesetzt, während sie in der zweiten Serie von der Luft abgeschlossen wurden. Der technische Teil des Versuches wurde so gelöst, dass die Wurzel der in der Eprouvette auf feuchtem Filterpapier gezüchteten *Sinapis*-Keimpflanze, auf die in Abb. 6a gezeigte Weise, mit gut aufgekochtem, also von der absorbierten Luft gereinigtem Wasser bedeckt wurde. Dieses Wasser wurde noch mit einer Ölschicht abgeschlossen, um eine Lösung neuerer Luftmengen zu verhindern. Die Wurzeln der Kontrollserie

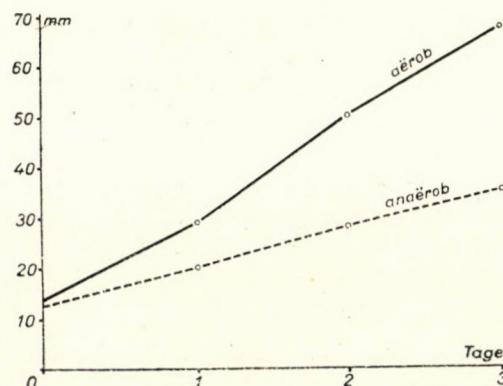


Abb. 7. Von der Aeration der Wurzel abhängiges Wachstum des *Sinapis*-Hypokotyls. Das Hypokotyl der unter aeroben Bedingungen sich entwickelnden Keimpflanze wächst in drei Tagen auf ungefähr das Doppelte wie das von solchen Exemplaren, deren Wurzel sich unter anaeroben Verhältnissen befand

wurden ebenso bedeckt, doch mit der in Abb. 6b gezeigten Vorrichtung wurde Oxygen hergestellt, das wir ununterbrochen durch die die Wurzel bedeckende Wasserschicht strömen liessen. Das aus der Sauerstoff bildenden Eprouvette führende dünne, nach unten gerichtete Glasröhren wurde in die andere, die Versuchspflanze enthaltende Eprouvette gesenkt. Auf diese Weise befand sich neben jedem Pflanzenindividuum je eine sauerstoffbildende Eprouvette. Solche Einheiten konnten auf den Eprouvettenständern leicht untergebracht werden. Sie beanspruchten geringen Raum, so dass in jedem Thermostat viele Pflanzen Platz hatten. Da der neben die Pflanzen gestellte Sauerstoffgenerator sehr gleichmässig und lange Zeit funktionierte, musste die Entwicklung der Pflanzen nicht mit immer neueren Eingriffen gestört werden. Es wurde nur täglich auf der äusseren Fläche der Glasröhren die Länge des Hypokotyls mit Tusche bezeichnet. Gleichzeitig wurde, falls es nötig war, durch das auf den Sauerstoffgeneratoren angebrachte Tropfglas, in die  $H_2O_2$  Lösung weiteres Permanganat dosiert, sooft in der Entwicklung des Sauerstoffs eine Verlangsamung eintrat.

Der Versuch dauerte drei Tage. Während dieser Zeit waren die Pflanzen im Dunkeln, ausgenommen die kurze Zeit, die die Beobachtung der einzelnen Individuen beanspruchte. Abb. 7 veranschaulicht die Ergebnisse dieses Versuches.

Während der Aeration der Wurzel ist das Wachstum des Hypokotyls lebhafter als in der Gegenserie. Erwähnenswert ist der Umstand, dass der Unterschied zwischen den Hypokotylen der beiden Serien bereits am ersten Versuchstag in Erscheinung tritt. Der Stengel der Pflanzen, deren Wurzel von der Luft abgeschlossen wurde, ist nach drei Tagen nur halb so gross wie der der Kontrollserie. Diese Angaben lassen deutlich erkennen, dass die Oxygenversorgung der Wurzel im normalgleichmässigen Wachstum des Stengels eine Rolle von entscheidender Wichtigkeit spielt, und zwar nicht nur dadurch, dass die Berührung mit der Luft die Aufnahmefunktion der Wurzel fördert. Im gegebenen Fall konnte nämlich die Wurzel ausser dem Wasser keinen anderen Stoff aus der Umgebung aufnehmen. Es verdient hervorgehoben zu werden, dass das Keimblatt die Keimpflanzen mit Aufbau- und Nährstoffen zur Genüge versah, doch konnte die das Wachstum des Hypokotyls anregende Fähigkeit dieser Stoffe nur dann gut zur Geltung kommen, wenn der Atmungsstoffwechsel der Wurzel ungestört war. Natürlich kann angenommen werden, dass sich unter den anaeroben Verhältnissen der Wurzel vielleicht toxische Stoffwechselprodukte bildeten (z. B. Alkohol) und das Wachstum des Hypokotyls dadurch verhindert wurde. Diese Frage werden wir bei einer anderen Gelegenheit eingehend untersuchen. Nicht zu bezweifeln ist jedoch, dass der Wurzel — vom Standpunkte der Verwendung der Keimblatt-Reservestoffe — im Wachstumsvorgang des Hypokotyls ganz gewiss eine positive Aufgabe zufällt. Wir sahen bereits, dass auch im Falle des Abschneidens der Keimwurzel das Hypokotyl langsamer wächst, obwohl gerade das Gegenteil davon eintreten müsste, denn da die Wurzel zum eigenen Wachstum keinen Nährstoff abzieht, könnte das Hypokotyl — sozusagen konkurrenzlos — die Nährstoffe des Keimblattes für sich allein verbrauchen. Dennoch weist das Resultat nicht darauf hin, sondern lässt klar erkennen, dass das Fehlen der Wurzel für das Wachstum des Hypokotyls von Nachteil ist. Dies ist um so erwähnenswerter, weil im gegebenen Fall von toxischen Produkten keine Rede sein kann.

Mit dieser Begründung gelangen wir zur Erkenntnis, dass selbst im Falle der gehinderten Aeration der Wurzel keine Intoxikation angenommen werden muss. Hingegen kann aus dem Versuch, wenigstens unserer Ansicht nach, die Lehre gezogen werden, dass das Wachstum des oberirdischen Teiles, bzw. die Verwendung der im Keimblatt aufgespeicherten Nährstoffe in grossem Masse von den in der Wurzel vor sich gehenden Oxydationsprozessen abhängen.

## LITERATUR

1. ALMESTRAND, A. (1947) Studies on the growth of isolated roots of barley and oats. *Physiol. Plant.*, **2**, 372—387.
2. BONNER, J. (1948) On the growth factor requirements of isolated roots. *Amer. J. Bot.*, **35**.
3. BOYSEN-JENSEN, P. (1935) Über den Nachweis von Wuchsstoff in Wurzeln. *Planta*, **19**, 345—350.
4. BRACHET, J. (1950) Локализация и вероятная роль нуклеиновых кислот в клетке и в эмбрионе. *Усп. совр. биол.*, **29**, 140—144.
5. BURSTRÖM, H. (1953) Physiology of root growth. *Ann. Rev. Plant. Physiol.*, **4**, 237—252.
6. Цельниker, Ю. Л. (1950) К вопросу о физиологических причинах ритмичности роста у деревьев. *Бот. журн.*, **35**, 445—460.
7. DELARGE, L. (1939) Croissance et ramification des racines cultivées isolément. *Bull. Soc. Sci. Liège*, **6**, 397—416.
8. DEROPP, R. S. (1945) Studies on the physiology of leaf growth. I. *Ann. Bot.*, **9**, 369—381.
9. DEROPP, R. S. (1946) The influences of roots on the growth of leaves and stems in rye. *Ann. Bot.*, **10**, 31—40.
10. DITTMER, H. J. (1937) A quantitative study of the roots and roothairs of a winter rye plant (*Secale cereale*). *Amer. J. Bot.*, **24**, 417—420.
11. FARKAS, Gy. (1954) Unveröffentlichte Resultate.
12. FELDMEIER, I., GUTTENBERG, H. (1953) Über das Vorkommen von Wuchs- und Hemmstoffen in Samen und Keimpflanzen von *Phaseolus vulgaris*. *Planta*, **42**, 1—18.
13. FRENYÓ, V. (1952) Unveröffentlichte Resultate.
14. GORDON, S. A., WEBER, R. P. (1951) Colorimetric estimation of indolacetic acid. *Plant. Physiol.*, **23**, 192—195.
15. GUTTENBERG, H., LEHLE-JORGES, E. (1947) Über das Vorkommen von Auxin und Heteroauxin in ruhenden und keimenden Samen. *Planta*, **35**, 281—296.
16. HAMETT, F. (1928) Studies in the biology of metals. IV. The influence of lead on mitosis and cell size in the growing root. *Protoplasma*, **5**, 535—542.
17. HITCHCOCK, A. E., ZIMMERMAN, P. W. (1935) Absorption and movement of synthetic growth substances from soil as indicated by the response of aerial plants. *Contr. Boyce Thompson Inst.*, **7**, 447—476.
18. JAKOBS, W. M. P. (1950) Auxin-transport in the hypocotyl of *Phaseolus vulgaris* L. *Amer. J. Bot.*, **37**, 248—254.
19. LAIBACH, F., FISCHNICK, O. (1936) Die Wuchsstoffleitung in der Pflanze. I. *Planta*, **25**, 648—659.
20. LEE, A. E. (1949) The growth in culture of intact seedlings and isolated seedling organs. *Amer. J. Bot.*, **36**, 798—799.
21. NAGAO, M. (1938) Studies in the growth hormone of plants. *Sci. Rep. Tohoku Imp. Univ.*, **13**, 221—228.
22. NAUNDORF, G., VALLMITJANA, L. (1948) Growth substances in relation to the development of the principal root and the formation of lateral roots in *V. faba*. *Publ. Inst. Biol. Apl. (Barcelona)*, **4**, 107—132.
23. POTAPOV, N. G. (1952) Unveröffentlichte Resultate.
24. POTAPOV, N. G., FRENYÓ, V., FARKAS, Gy. (1954) A gyökér aerációjának hatása a *Sinapis alba* hipokotiljának növekedésére. Die Wirkung der Aeration der Wurzel auf das Wachstum des Hypocotyls der *Sinapis alba*. *Ann. Biol. Univ. Hung.*, **2**, 83—88. (Ungarisch, deutsche Zusammenfassung.)
25. POTAPOV, N. G., MARÓTI, M. (1954) A bab gyökér és szármerisztéma sejtjei növekedésének és osztódásának sajátosságai. Eigentümlichkeiten in Wachstum und Teilung der Meristemenzellen der Wurzeln und Spross bei der Fisole. *Ann. Biol. Univ. Hung.*, **2**, 107—114. (Ungarisch, deutsche Zusammenfassung.)
26. ROBBINS, W. J. (1922) Cultivation of excised root tips and stem tips under sterile conditions. *Bot. Gaz.*, **73**, 376—390.
27. LOO SHIH-WEI (1945) Cultivation of excised stem tips of *Asparagus* in vitro. *Amer. J. Bot.*, **32**, 13—17.
28. LOO SHIH-WEI (1946) Further experiments on the culture of excised *Asparagus* stem tips in vitro. *Amer. J. Bot.*, **33**, 156—159.
29. LOO SHIH-WEI (1946) Cultivation of excised stem tips of dodder in vitro. *Amer. J. Bot.*, **33**, 295—300.
30. SKOOG, F. (1938) Absorption and translocation of auxin. *Amer. J. Bot.*, **25**, 361—372.
31. SÖDING, H. (1952) Die Wuchsstofflehre. Stuttgart.

32. STICH, H. (1951) Tripaflavin und Ribonukleinsäure. *Naturwiss.*, **38**, 435—436.
33. SYNNÖVE SAUBERT, v. HAUSEN (1948) On the role of growth substances in higher plants. *Physiol. Plant.*, **1**, 85—94.
34. TORREY, J. G. (1952) Effects of light on elongation and branching in pea roots. *Plant Physiol.*, **27**, 591—602.
35. VAN OVERBEEK, J. (1939) Evidence for auxin-production in isolated roots growing in vitro. *Bot. Gaz.*, **101**, 450—456.
36. VOSS, H. (1933) Der histotopochemische Nachweis einer Nukleinsäuresynthese. *Z. mikr.-anat. Forsch.*, **34**, 282—311.
37. WENT, F. W. (1938) Transplantation experiments with peas. *Amer. J. Bot.*, **25**, 44—55.
38. WENT, F. W. (1938) Specific factors other than auxin affecting growth and root formation. *Plant Physiol.*, **13**, 55—80.
39. WENT, F. W. (1951) The development of stems and leaves. In SKOOG, F. *Plant growth substances*. Wisconsin, 287—297.
40. WHITE, P. R. (1934) Potentially unlimited growth of excised tomato-root tips in a liquid medium. *Plant Physiol.*, **9**, 585—600.
41. WILLIAM, A. (1948) Culture de racines in vitro. *Lejeunia*, **12**, 39—41.
42. Жданова, Л. П. (1954) К вопросу о синтетической деятельности корневых систем. *Докл. Акад. Наук СССР*, **94**, 337—340.

### РОЛЬ КОРНЕЙ В РАННИХ ФАЗАХ РАЗВИТИЯ

Автор излагает некоторые частичные результаты своих исследований, проведенных для выяснения роли корней. В качестве объекта исследования он применял зародышевые растения *Sinapis alba*. Рост надземных органов в данном случае еще не зависит от питательных веществ окружающей среды, а рост как гипокотиля, так и корней осуществляется за счет запасных веществ, накопленных в семядоли. Автор устанавливает, что физиологическая роль корней не ограничивается лишь приемом и передвижением питательных веществ, а они синтетизируют одновременно также и вещества, активизирующие рост гипокотиля. При отсутствии корней рост гипокотиля в большой мере замедляется даже при оптимальном водоснабжении, хотя в таком случае гипокотиль сам употребляет вещества семя доли, и не принужден конкурировать с корнем. Несомненным является, что корень зародышевого растения каким-то образом способствует использованию гипокотилем накопленных в семядоли веществ. Все это в большой степени зависит от окислительных процессов, имеющих место в корнях. Гипокотиль зародышевого растения с препятственной аэрацией корней прорастает гораздо медленнее, чем гипокотиль растений, корни которых проветрены соответствующим образом. Несмотря на то, что сам Гипокотиль снабжался воздухом в обеих сериях опытов в одинаковой мере, оптимальное использование гипокотилем питательных веществ семядоли наблюдалось только при участии корней. При этих исследованиях автора нельзя было предположить, что вследствие плохого проветривания корни посредством ядовитых продуктов обмена веществ препятствовали бы росту гипокотиля.

В так называемом пасоке корней автор выявил присутствие фактора с ауксиновым действием; данный фактор не дал характерной для бета-индолил-уксусной кислоты цветной реакции.

Пасока корней не способствовала росту гипокотиля зародышевого растения *Sinapis*, лишенного корней. Гипокотиль, связанный с корнями искусственным, гуморальным путем, также проявлял плохой рост. Следовательно, действие корней, способствующее росту, не распространяется на поверхность свежих повреждений и не проходит вверх через трахеи. Активизирующий фактор попадает из корней зародыша в гипокотиль, по всей вероятности, посредством миграции питательных веществ, наблюдавшейся в плазме живых клеток.

Кроме корней, семядоля и точка роста стебля также участвуют в активации роста гипокотиля в темноте, то есть, наблюдается взаимодействие всех органов, причем, однако, на скорость роста гипокотиля самое большое влияние оказывают корни.

## THE ROLE OF THE ROOT IN THE EARLY PHASES OF DEVELOPMENT

The paper contains some of the results obtained by the author from investigations into the functions of the root. Seedlings of *Sinapis alba* were used in the present experiments. At this early period of life, growth does not yet depend on environmental nutriment, as both hypocotyl and roots still consume the reserves stored in the cotyledon. It is stated by the author that the physiological function of the root is not restricted to the absorption and conduction of nutritive matter but comprises also the synthesis of substances that promote the growth of the stem or the hypocotyl. Severed from the root, the hypocotyl, however abundantly it is supplied with water, will grow at a much slower rate, and this irrespective of the fact that, in the absence of roots, it remains the sole consumer of the reserves accumulated in the cotyledon. In some way the root of the seedling apparently helps the hypocotyl to utilize the substances stored in the cotyledon. All this depends to a great extent on processes of oxidation in the root. Hypocotyls of test seedlings with badly aerated roots were found to grow much slower than those of the controls the roots of which had a good air supply. The experiments showed that only the well aerated roots of the controls had the power to assist the seedling in utilizing the substances of the cotyledon, and that such assistance was necessary to ensure adequate growth although the hypocotyl itself had a good aeration in controls and tests alike. The arrangement of the experiments was such as to prevent the possibility of the growth of the hypocotyls being hindered by any poisonous metabolic substances produced by the badly aerated roots. The presence of an auxin-like factor was demonstrated in the sap exuded by roots at guttation which failed to give the colour reaction characteristic of  $\beta$ -indole-acetic acid.

The said secretion of the root failed to promote the growth of the hypocotyl of *Sinapis* seedlings deprived of their roots. Also the growth of hypocotyls connected with the root humoually, in an artificial way, was found to be retarded. Thus, the growth-promoting factor of the root does not seem to penetrate through the fresh wound surface, nor to be conveyed upwards by way of the tracheae; it appears as if a process of migration through the plasmas of living cells were responsible for the translocation of the activating factor from root to hypocotyl.

That the hypocotyl is able to grow in the dark is due not only to the promoting activity of the root but also to that of the cotyledon and the apical meristem of the stem, so that a co-operation of all these organs is at the back of growth which, however, receives the most vigorous stimulus undoubtedly from the root.

Any inhibition of the root's growth, be it by mechanical means or by means of trypaflavin, is followed by a slowing down in the growth of the hypocotyl. It seems that the physiological processes at play in the inhibition of root growth are not quite identical with those which are at the back of the delay in the growth of the hypocotyl.

VILMOS FRENYÓ, Budapest, VIII., Múzeum krt. 4/a. Ungarn.



# HISTOGENETICAL OBSERVATIONS IN THE STEM TIP OF PAPAVER SOMNIFERUM L.

S. SÁRKÁNY and E. PERCS

INSTITUTE OF APPLIED BOTANY AND HISTOGENETICS OF THE EÖTVÖS LORÁND UNIVERSITY, BUDAPEST  
(HEAD: S. SÁRKÁNY)

(Received April 5, 1956)

## Summary

Setting out from the plumule of the seed embryo, the authors have investigated the morphogenesis and the histogenesis, as well as the duration of development of the stem tip, first in the vegetative, then in the transitory and finally in the reproductive shoot apex. In the course of their investigations the histogen zones of the shoot apex, the meristematic activity of their immediate derivatives and the alterations taking place in these regions were analysed, chiefly by means of cytokar ratio\*-measurements. Their observations have led to the following conclusions :

As regards alterations of form and zonation in the shoot apex of the poppy, seven developmental phases may be discerned. Of these, three are of vegetative, the fourth of transitory and the last three of reproductive character. In the first two phases of development the tunica is 2-layered, in the third phase it is 4—5-layered, whereas in the reproductive phase it is composed of but 3 cell-layers. At the beginning of germination a moderate number of subtunical corpus initials and a few pith meristem cells may be observed in the vegetative shoot apex. The former are to give rise later to the rib meristem and flank meristem zones.

The rib meristem of insignificant volume has a but temporary function in the vegetative shoot apex, because it changes soon into pith meristem. By the so-called „cytokar ratio analysis” it was not possible to get convincing evidence of the presence of the „transitory meristem” in the form of a continuous histogen zone, as described by HEGEDÜS in several other plants. The foliage leaf primordia initiate irrespectively of the number of its layers, in the second cell-layer of the tunica, whereas the floral regions arise from the innermost layer of the three-layered tunica. Under given experimental conditions the vegetative developmental stage of the shoot apex of *P. somniferum* lasts roughly 30 to 35 days, to be counted from sprouting; the evolution of the reproductive shoot apex and the closing of the pistil primordium will take an additional 15 to 20 days.

## Introduction

There was no outstanding progress during the first two decades of our century in the question of the histological structure and the function of the stem tip. In 1922 and the following years, however, wide interest was raised by KOSTITCHEV's work [17] in which the author, starting from investigations on the shoot apex of more than 130 dicotyledons, criticizes the former concept and represents the procambial differentiation of the stem tip and its consequences in a new light. In the wake of this study the results of further investigations were soon published [8, 10, 13, 16, 27, 28] dealing also exclusively with procambial development, its topographical conditions, its further differentiation,

\* Cell-diameter — nucleus-diameter ratio.

as well as its direct or indirect rôle in the secondary growth of the vascular system. The authors afore-mentioned do not therefore extend their investigation to the other meristematic regions of the stem tip; not so SCHMIDT [29] who, analysing the structural conditions in the youngest part of the vegetative stem tip, void of outgrowths, proves that the zone considered heretofore as homogeneous, comprises, in many cases, two well defined tissues: a single- or multi-layered tunica, dividing in most cases anticlinally and within it the centrally situated corpus, whose cells divide in various planes. During the next years thorough studies were pursued by numerous workers on the histological structure, the function and the differentiation of the meristem of the shoot apex in the dicotyledons, and in the monocotyledons, more recently also in the gymnosperms. Some investigators [11, 20, 22, 23, 25, 26, 32] confirm SCHMIDT's concept according to which the tunica-corpus concept is well founded, while other authors hold different views [7, 14, 15, 21].

The major part of the investigators studying the structure of the shoot apex is obviously interested not only in the tunica-corpus concept but also in many other questions of a different nature. Such subjects are among others: zonation of the shoot apex and its taxonomical relationships [11, 12, 20, 22, 23, 25, 31]; determination, by cytometric means, of the degree of differentiation of meristems having an isodiametric character, and, in this connection, the problem of the transitory meristem [14, 15, 18, 19, 22, 24]; variations in form and dimension of the shoot apex for each plastochnone during the vegetative phase of ontogeny [1, 3, 4, 6, 9, 18, 23, 26, 32]; also structural and functional variations of the vegetative shoot apex during transition into the reproductive phase and during the later phases of floral development [2, 5, 19, 30].

From the literature available on the subject it can be deduced that, on the one hand, even within the themes mentioned above, many questions are still open to discussion or unsolved, while on the other hand no difficulty seems to exist in outlining all investigative standpoints which in any study on the organisation of the shoot apex should be taken into consideration. Thus obviously along with anatomical questions, problems of physiological or biochemical nature may arise, going beyond difficulties in methodics and confronting investigators or investigating groups with difficult tasks. Taking all this into account while planning our program, we decided to abandon all attempts to completeness but, instead, to elaborate some questions of detail.

The stem tip of *Papaver somniferum* L. was chosen as our main subject because the medicinal plant-investigation schedule of our Institute comprises also the poppy, endeavouring to develop the so-called double purpose species with a satisfactory simultaneous seed and morphine yield. One, rather theoretical point of our complex studies was the analysis in time and space of the organisation of the stem tip, with special regard to the appearance of flower and pistil primordia.

More particularly, it was interesting to find out in the period of ontogeny under investigation, all formal, dimensional and histological variations of the vegetative, as well as later, of the reproductive shoot apex in the poppy and to determine how long after germination the reproductive shoot apex and/or the primordium of the pistil appear. In the course of these studies both the morphogenetical relationship and the histological structure of the vegetative or reproductive shoot apex of individuals in various stages of development were analysed with special care. It was thus undertaken partly to approach the tunica-corpus concept, partly the problems of the zonation and of the initiatory differentiation of the flower parts. Parallel to these, investigations were extended to determine by the use of the cytokin ratio the problem of „transitory meristem” recognised earlier by HEGEDÜS [14, 15] in other plants and to test at the same time the practicability of this method.

#### Material and methods

The investigations were carried out on swelled seeds, on seedlings in various stages of growth and on rosetted and stem bolting individuals of *Papaver somniferum* L. var. *griseum*. The material chosen for investigation was grown and collected in the experimental area of the Alsógöd Biological Station of our University. Seed planting was carried out on March 22, 1954. For test purposes some seeds were simultaneously germinated in Petri-dishes, at room temperature as well. Samples from the free-air lot were collected at the beginning of the development every second day, later on every fourth or fifth day, at the approach of the reproductive period again every second day.

The younger plants were completely, the older ones only in their upper parts fixed in Carnoy II and in Formalin-Propionic acid-Alcohol fixative (FPA) respectively; after embedding in paraffin, series of longitudinal and transversal sections were cut at thicknesses varying from 6 to 12  $\mu$ . These were finally stained, using the Ehrlich-Hämatoxylin-Vesuvin double schedule and mounted in Canada balsam.

At each collecting, in order to determine the duration of development, apices of the living plants were studied in situ, with a „Cytoplast” microscope and photographed. Along with the primary reproductive shoot apices, the researches dealt with the secondary reproductive apices forming basipetally. Thus about 80 embedded apices and as many living ones were observed and analysed.

#### Structural and zonal changes in the vegetative shoot apex

a) In the swelled seed the embryonic plumule features a relatively simple structure and is directly encircled by the basic part of the cotyledons (Fig. 11). On the scarcely protruding stem tip of but a few cell layers, the double-layered tunica is well defined. The next subtunical tissue comprises but few cells and its periclinal wall divisions suggest corpus initials. Still deeper, in more or less regular rows, appear the cells of the pith meristem. The procambium shows a distinctly homogenous structure, so protoxylem elements can not yet be observed there.

b) At the beginning of germination, after the bursting of the seed coat, the plumule does not exhibit any considerable increase, though a slight change is indicated by the initiation of the first foliage-leaf outgrowth in one sector

between the median and the transversal layers. The structure of the higher apical level is identical to the preceding stage.

c) Within about 30 to 36 hours from the beginning of the swelling, the initiation of the second foliage leaf takes place (Fig. 1). At this stage the primary root of the seedling measures about 10–15 mm, its hypocotyl is strongly bent, the seed coat still covers the greenish cotyledons. The basic part of the cotyledons covers and protects the primary apex developed from the plumule. The outgrowth of the first foliage leaf, with an increasing number of cells, protrudes more distinctly and causes an asymmetry in the relatively flat apex. At about 135° from the first elevation initiates the afore-mentioned second foliage-leaf outgrowth; the former's initiatory differentiation is introduced by a periclinal division in the two neighbouring cells of the inner layer of the tunica. The tunica itself is still two-layered, the corpus mostly composed of initials, no appreciable zonation is visible. In the procambium of the cotyledons a differentiation of protoxylem elements with thickened walls can be observed.

d) When about 10 days old, the apex of the plant comprises approximately 6 foliage-leaf outgrowths and/or primordia. The height of the stem tip without mounds may vary even within the same plastochrone: it is most protruding just before the initiation of the next leaf primordium (Figs. 2 and 12), while afterwards it becomes flatter and wider (Fig. 3). From the point of view of dark staining and vacuolation an axial group of initials and a lateral part can be distinguished in the structure of the two-layered tunica. In the corpus the flank part of the initial zone develops into flank meristem, whereas centrally it differentiates into rib-meristem. Downward, the zone of a few cell-layers of rib-meristem changes into the pith-meristem (Fig. 13). Here too, the foliage leaf outgrowths are initiated in the second layer of the tunica.

e) The rosette with its 18 to 24 leaves or leaf-elevations differs in shape and structure from the stages previously described (Figs. 4 and 14). The vegetative apex elongates here considerably and its basis widens. The number of layers in the tunica increases to three, later on to four or five. In the corpus the axially arranged initial zone becomes visible, followed in central direction by the characteristic tissue of the pith-meristem, after the stoppage of the rib-meristem. Laterally, between the multi-layered tunica and the pith-meristem, is arranged the zone of the flank meristem with its smaller cells and irregular structure.

f) During the last stage of the vegetative development of the apex, e. g. during the formation of the 25–29th primordium, no appreciable alteration takes place in its structure; its form and shape varies only inasmuch that it continues to elongate gradually (Fig. 5).

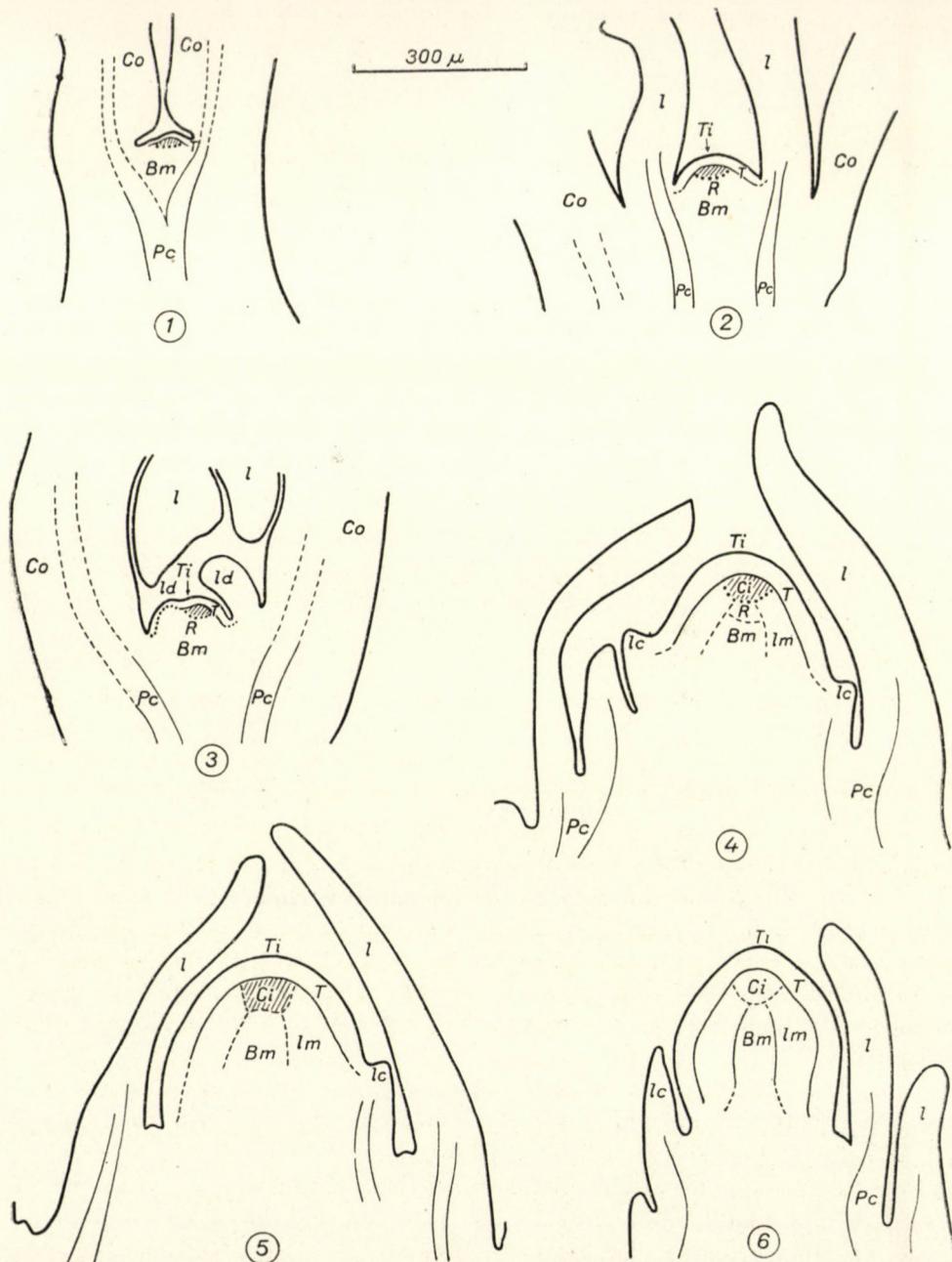


Fig. 1-6. Longitudinal sections showing stages in development of the shoot apex of *Papaver somniferum* L. 1-5. Vegetative shoot apices. 6. Transitory shoot apex. Co = cotyledon, l = leaf primordium, lc-ld = leaf outgrowth, Pc = procambium bundle, Ti = Tunica initials group, T = tunica, Ci = Corpus initials group, R = rib meristem zone, lm = flank meristem zone, Bm = pith meristem. See text for explanation

### Shape and zonation of the transitory shoot apex

The vegetative shoot apex does not immediately after the formation of the last leaf primordium differentiate into the stem tip producing reproductive organs, but passes through the so-called transitory stage. During the developmental stage of relatively short duration, characteristic changes take place in the apex: mainly in the central zone of the shoot apex numerous periclinal divisions occur, followed by anticlinal divisions of the peripheral cells. Thus the whole apex emerges from its surroundings and assumes a different appearance. These observations are consistent with BERSILLON's results [2] who, pursuing different objectives and using different methods had studied the transitory stage in detail.

As to the zonation of the transitory stage, our observations prove that it differs hardly from the conditions visible at the end of the vegetative phase (Figs. 6 and 15). The top of the apex is covered by the multi-layered tunica, assuming apically a four-layered, laterally a five-layered appearance. But its dark staining suddenly decreases at the level of the topmost leaf outgrowths. From the peripheral region of the zone having approximately eight cell-layers (the corpus initials), located axially under the layers of the tunica, the laterally positioned so-called flank meristem may derive; its cells are here commonly arranged in longitudinal rows. Directly under the axial cell groups, in a central plane, is the tissue of the pith meristem. Its top-near cells are, in relation to the lower ones, more meristematic and darker stained, because in the deeper levels there follows apparently without transition a strongly vacuolated, wide-lumened, only scantily chromophil tissue region.

### Shape and zonation of the reproductive shoot apex

From a histogenetic point of view, the reproductive stage in the growth of the plant starts with the appearance of the sepal primordia. The final formation of the reproductive shoot apex ends with the development of the pistil outgrowths.

a) Our investigations on the subject were started on shoot apices with the sepal primordia already developed, but with their top still cone shaped (Fig. 7). In the fourth layer of the apical region of the reproductive shoot apex, in some cases laterally in the fifth layer, periclinal divisions may be observed, which do not lead to organ formation. Thus, during this stage of differentiation the tunica is to be considered as consisting of three layers only.

Underneath the tunica, well defined by its darker staining and its multi-directional divisions, is the central zone, whereas laterally the flank meristems show, decreased to a few cell tiers. The greater part of the reproductive stem tip is filled in with pith-meristem, which exhibits a very considerable increase in compa-

risson with the vegetative as well as the transitory shoot apex; even a slight zonation is here discernible. In the top-near level are located strongly chromophil meristems dividing multidirectionally, while deeper down, longitudinal rows of meristematic cells with characteristically transversal divisions, are arranged. The authors are of opinion that the latter should by no means be taken for rib

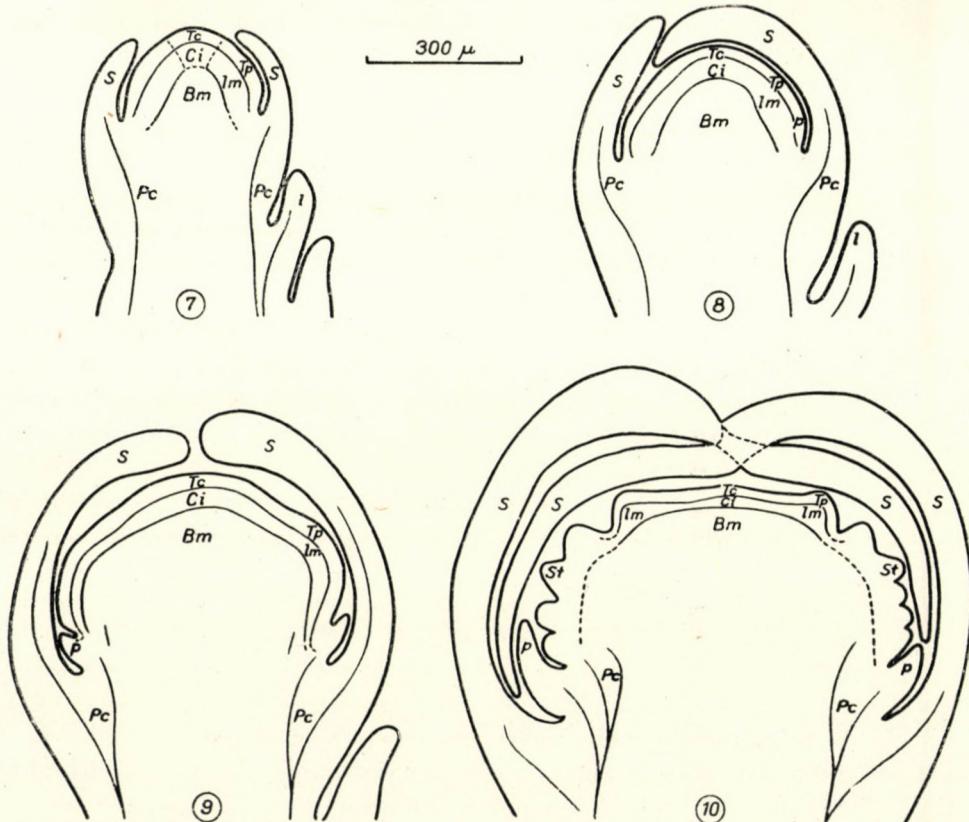


Fig. 7-10. Longitudinal sections showing stages in development of the reproductive shoot apex of *Papaver somniferum* L. See explanation for Figs. 1-6;  
 S = sepal primordium, P = petal outgrowth, St = stamen outgrowth, Tc = tunica apicalis,  
 Tp = tunica lateralis

meristem, their cells being isodiametric and pointedly vacuolated. In the stage under investigation the sepals were already in highly developed procambial connexion with the vascular system of the apex.

b) In a slightly older shoot apex the sepals, by reason of their increased growth, are already overlapping and the stem tip covered by them has an approximately hemispherical shape (Fig. 8). In this phase the tunica comprises three layers both apically and laterally.

The cells of the third layer divide with periclinal walls, immediately above the level of the sepal primordia, in direction of the median and transversal

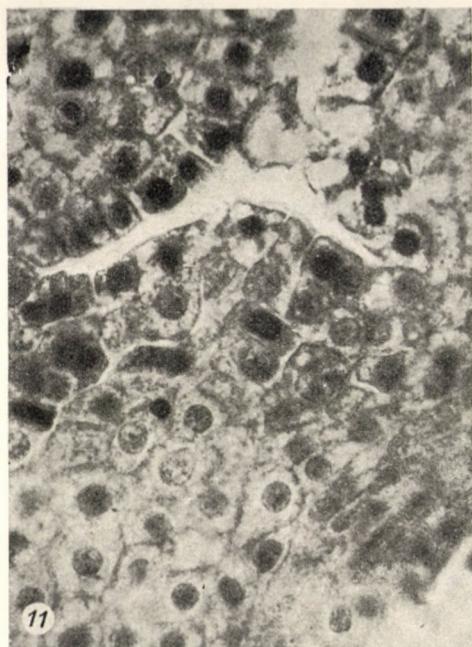
planes, indicating the beginning of the initiation of the petals (Fig. 16). At this level series of anticlinal divisions can be observed in the second layer of the tunica, whereas the cells of the external layers — at least at the beginning — are only elongated. After an increase in the periclinal divisions already mentioned, and a numerical growth of the derivatives, with the appearance of the primordia of the petal whorl, the stem tip starts broadening and though it still continues to extend a trifle axially, it never again regains its hemispherical shape. Underneath the layers of the tunica a pronouncedly chromophil meristem of about 4 to 8 cell-layers can be observed, while further inward the strongly vacuolated cells or layers of the pith meristem follow, almost without transition.

c) Our further investigations on still older reproductive shoot apices led to the observation of the initiation of the stamen primordia. At this stage the tip of the shoot apex starts flattening out and the plane of the future stamen level separates laterally (Figs. 9 and 17).

In the three-layered tunica of the apical zone the cells of the innermost layer are relatively largest, but in all layers divisions occur only occasionally. Underneath the tunica a strongly chromophil meristem appears in thickness of 5 to 6 cell-layers, followed inwards, after a transition of one or two rows of cells, by the pith meristem. At the lateral region of the stem tip the cells of the external and second tunica layers, strongly chromophil in character, divide in several spots anticlinally. In the third layer the periclinal division of two adjacent cells is not unusual, and indicates the area of the formation of the future stamen primordia. These derivatives are commonly superposed, though sometimes an oblique wall intercalates and causes them to arrange diagonally. The chromophil subtunical zone is represented here by 2 or 3 cell-layers only.

The petal primordia, which develop nearly parallel to the axis of the shoot apex are composed, about six layers deep, of very active chromophil cells; but their other tissues do not differ appreciably from the pith meristem of the stem tip.

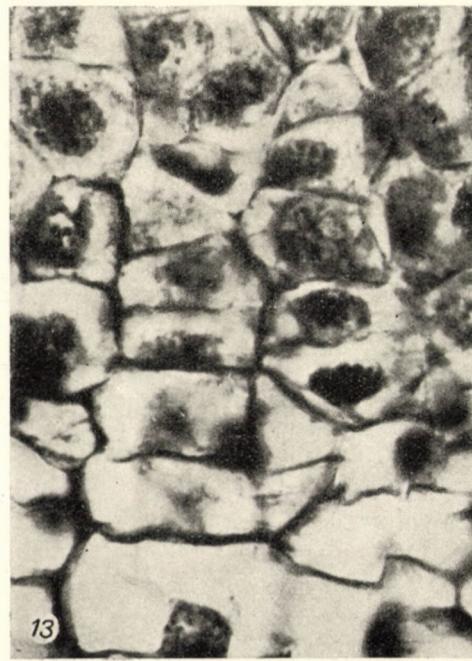
d) The formation of carpel primordia (primordial ring) and along with it the final phase in the differentiation of the reproductive shoot apex were studied in somewhat older plants (Figs. 10 and 18). The shoot apex surrounded by the sepals had grown and widened as compared with the previous degree of development. The primordia of the petals extend to about 1/4 of the height of the shoot apex and have established procambial connexions with the vascular system of the shoot. The differentiating stamen primordia stand detached and are easily identified. The stem tip proper is at this stage again flat and disclike. Its middle area suggests a small vault, which in the course of the differentiation of the pistil is going to become the basis of the ovary. In the present study this area of the stem tip is designated „central” as opposed to the peripheric region producing carpels and placenta.



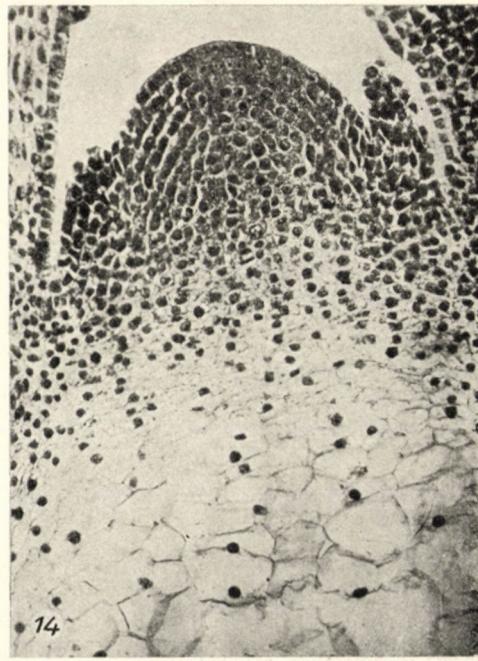
11



12



13



14

Fig. 11. Plumule of embryo of swelled seed. Rad. long. section.  $60 \times$  H. I. Apo. obj.,  $12 \times$  Photo oc., 12. Shoot apex of plant with six leaves. Rad. long. section.  $20 \times$  Apo. obj.,  $12 \times$  Photo oc., 13. Detail of inner part of young vegetative shoot apex. Rad. long. section.  $90 \times$  H. I. Apo. obj.,  $12 \times$  Photo oc., 14. Vegetative shoot apex of plant with eighteen leaves. Rad. long. section.  $10 \times$  Apo. obj.,  $7 \times$  Comp. oc. See text for explanation

The tunica of the central area consists of three, nearly uniformly staining layers. Underneath there is an alignment of some 5 to 6 layered chromophil meristem which communicates without any transition with the pith meristem, the most important constituent of the shoot apex.

The two outer layers of the tunica in the peripheral region are darkly stained, their cells elongate radially. The plane of division of the third layer is mainly periclinal. As a result the whole peripheric area protrudes somewhat.

A strongly vacuolated pith meristem adheres directly to the moderately staining few subtunical cell layers.

#### Cytometric analysis of the stem tip

In accordance with our objectives, investigations were extended to variations in the meristematic character of the meristematic zones mentioned earlier, not only independently but also in their relation to one another. To determine the meristematic activity, the cytokar ratio measurement method, introduced by HEGEDÜS, was applied [15]. Its essence consists in the assumption that the quotient between cell and nucleus diameter (cytokar ratio) enables deductions to be made on the activity of the roughly isodiametric meristem-cells. The values of the cytokar ratio decrease in an inverse ratio with the meristematic activity of the cells.

The measurements were carried out in the area of the vegetative, as well as in the reproductive shoot apex, but mainly and mostly in radial longisections. For that purpose, for each evolutional stage, the shoot apices of 2 to 5 plants were prepared.

a) 20 to 60 measurements were made in the vegetative stem tip for each area. Data are not given in detail here, only the determined mean values are shown in Table 1.

Table 1  
*Cytokar ratio-values in the vegetative shoot-apex*

	Swelled seed	2-leaved seedling	6-leaved seedling	12-14-leaved seedling	20-leaved seedling	22-24-leaved seedling
Tunica initials group .....	2,75	1,95	1,73	1,80	1,75	1,45
External layer of tunica ...	1,45	1,54	1,58	1,52	1,56	1,60
Second layer of tunica .....	1,55	1,58	1,60	1,60	1,68	1,65
Third layer of tunica .....	—	—	—	—	1,78	1,74
Fourth layer of tunica .....	—	—	—	—	1,78	—
Corpus initials zone .....	—	—	1,34	1,24	1,71	1,68
Rib meristem zone .....	1,80	1,85	1,71	1,79	—	—
Pith meristem .....	2,73	2,48	2,25	2,57	2,63	2,24
Flank meristem .....	—	—	1,58	1,48	1,94	1,96

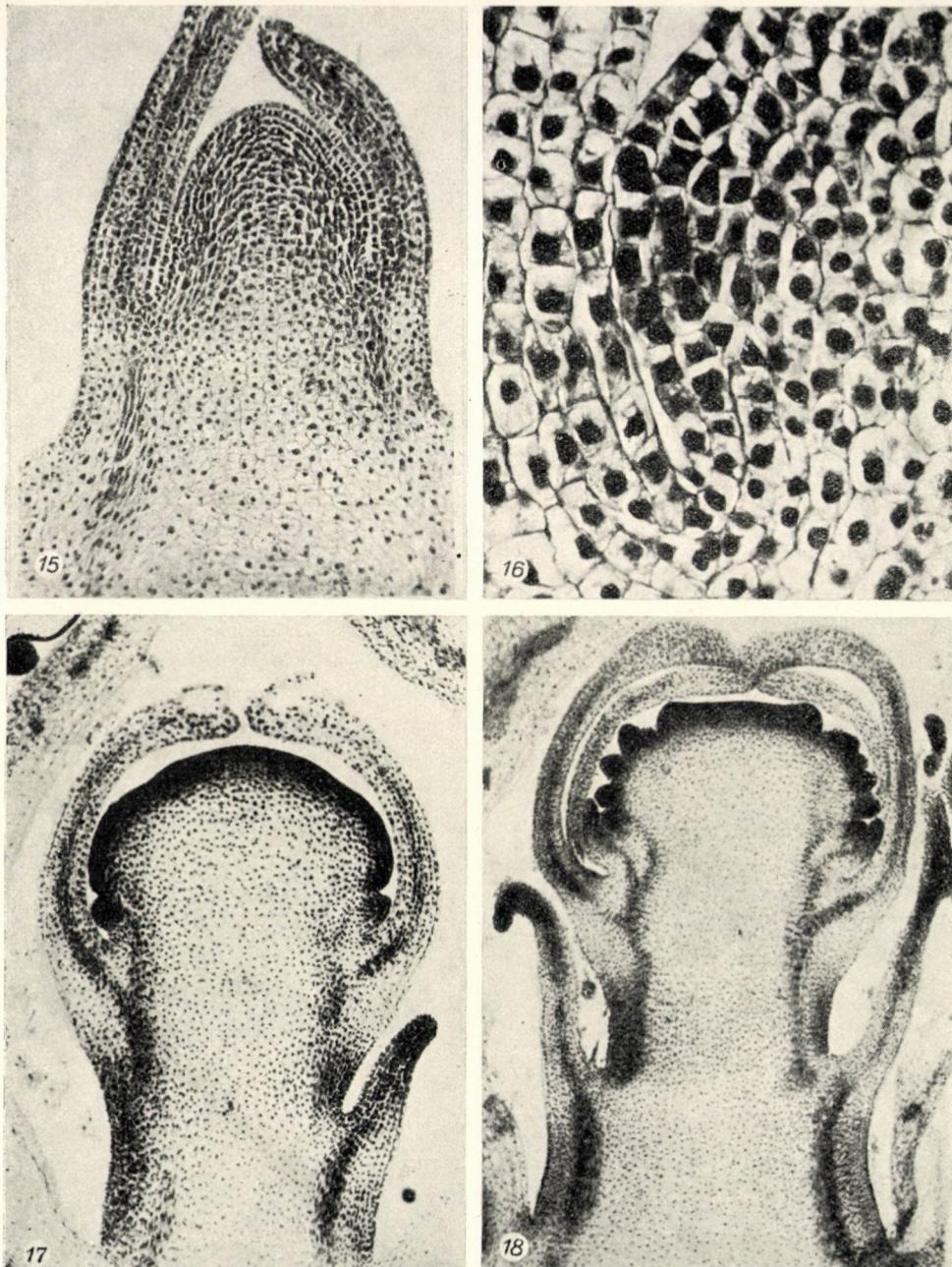


Fig. 15. Transitory shoot apex. Long. section.  $10 \times$  Apo. obj.,  $6 \times$  oc., 16. Initiation of petal protuberance. Rad. long. section.  $40 \times$  Apo. obj.,  $12 \times$  Photo oc., 17. Form of reproductive shoot apex at the time of primary organisation of the androeceum. Rad. long. section.  $6 \times$  obj.,  $8 \times$  Periplan oc., 18. Aspect of the reproductive shoot apex at the onset of the differentiation of ovary and placenta. Rad. long. section  $6 \times$  obj.,  $7 \times$  Comp. oc. See text for explanation

On the strength of this material the following conclusions were reached:

The group of *tunica initials* differs from the deeper areas of the tunica not only in their structural distinctive marks but also in their meristematic activity. Their presence in the plumule of the embryo of the swelled seed and later on in the initiatory phase of germination, can be proved by measurements even at a stage when other methods (staining, vacuolation) do not show them yet. The activity of these cells exhibits a growing tendency during the vegetative phase and reaches the top level at about the time of the appearance of the last foliage leaf outgrowth [1, 45].

The remaining cells of the tunica are commonly more meristematic than the elements of the initials group; in the vegetative stem tip of older rosetted plants this trend shifts, however, in favour of the initials group. In the stem tip of younger plants with still two-layered tunicas, the meristematic character changes but little, the cytokar value here varies between 1,5 to 1,6. The external layer seems always more meristematic than the inner one. An increase in the number of the tunica layers does not necessarily mean a change in the activity of the outer layers; the inner, 2 or 3, newly formed cell-layers show lower values (1,74 to 1,78).

Cell activity of the corpus initials zone is particularly interesting in the course of its evolution, as in the seed phase and in the early stages of germination it yields a ratio of only about 1,80, while in the subsequent stages it increases and attains a ratio of 1,34 to 1,24. In the last phase of the vegetative development the meristematic activity decreases again, the cytokar ratio being 1,71 to 1,79.

The *rib meristem zone* is in the course of development of the vegetative shoot apex but a transitory constituent. The intensity of division represents here an intermediate rate between the activity of the flank and the pith meristem (1,71 to 1,79).

The cytokar values of the *pith meristem* hardly change in the course of ontogeny and are lower than those of the previous tissue zones (2,3 to 2,7). In the mainly vacuolated large and isodiametric cells there appears besides the division, an elongation, the growth.

The *flank meristem zone* is no sooner well defined than in the mid-phase of the vegetative development. Here it constitutes, along with the corpus initials group mentioned earlier, the most active element of the corpus, as also indicated by the cytokar ratio (1,34 to 1,24). Later on its activity becomes poorer but seems to adopt a greater constancy (1,94).

b) The mean values of the data measured in the reproductive shoot apex are summarized in Table 2. On the strength of these data the following conclusions may be stated:

The first and the second layers of the *apical tunica* area attain the maximum of their meristematic activity as early as at the transitory phase (1,43 to 1,50),

**Table 2**  
*Cytokar ratio-values in the transitory and the reproductive shoot apex*

	Vegetative	Transitory	Stage with sepal primordia	Appearance of		
				petal primordia	stamen primordia	pistil primordia
<b>Apical part of tunica</b>						
1st layer .....	1,72	1,43	1,45	1,48	1,45	1,67
2nd layer .....	1,82	1,50	1,53	1,53	1,54	1,66
3rd layer .....	1,77	1,62	1,61	1,60	1,59	1,92
<b>Lateral part of tunica</b>						
1st layer .....	1,56	1,53	1,58	1,58	1,35	1,48
2nd layer .....	1,68	1,65	1,62	1,67	1,48	1,48
3rd layer .....	1,78	1,60	1,50	1,54	1,48	1,49
<b>Axial subtunical region (corpus initials)</b>						
(5—7 tiers) upper layers ..	1,71	1,74	1,53	1,76	1,78	1,96
(8—10 tiers) lower layers ..					2,14	2,47
<b>Flank meristem</b>						
100/ $\mu$ deep .....	2,63	2,19	2,11	3,05	2,70	3,03
160—250/ $\mu$ deep .....	2,97	2,59	2,39	3,16	2,72	3,57

and maintain it nearly unchanged during the whole developmental process. The activity of the third tunica layer is all through less intense than that of the preceding two layers.

The two external cell-layers of the *lateral tunica* reach the maximum of their meristematic activity only at about the appearance of the stamen-primordia (1,35 to 1,40); they display a similar activity at the time of carpel differentiation too. The third cell-layer remains all through its evolution somewhat more meristematic than the former two layers; its activity at the appearance of the stamen primordia corresponds, however, to that of the outer layers.

The meristematic activity of the *axially located subtunical zone* (corpus initials) suggests as a rule a transition between the activity of the flank meristem zone and the intensity of division in the top-near layers of the pith meristem. Only at the time of the differentiation of stamen and carpel can this otherwise homogeneous looking zone be divided into an upper, more meristematic and a lower, less active region. At this time namely the more intensive division is already restricted to a few cell-layers.

The activity of the cells in the *flank meristem* zone is during the functional period approximately constant (1,72 to 1,89).

Of all meristem zones mentioned so far, the *pith meristem* shows the least intensive activity, as its cytokin values depass generally 2,1 and may even reach a ratio of 3,0.

#### Essential alterations in the structure of the shoot apex during the period of vegetation

A further objective of consequence became the observation of the rhythm of organisation of the vegetative and the reproductive shoot apex, from germination to the formation of the pistil primordium, more precisely the approximate determination of the beginning and the duration of each morphogenetical phase.

These observations were carried out in a large number of plant individuals, mainly with the help of a stereo-binocular microscope. The relative data are not given here in detail, a short summary, however, leads to the following conclusions.

Taking into account the influence of average environmental factors, the vegetative period of development of the primary axis of the plant takes about 30 to 35 days from the day of sprouting. During this time 26 to 29 foliage leaves initiate or differentiate on the vegetative stem tip. The development of the reproductive shoot apex, until the closing of the pistil primordium, lasts approximately another 15 to 20 days. Flowering starts then in about 10 to 15 days and lasts, for each plant, 3—10—(12) days. Additional 21 to 28 days are necessary for the maturing of the fruit.

In the vegetative phase of its development *P. somniferum* L. is a rosetted plant; the internodes of the primary shoot hardly attain 1 or 2 mm. The phenometrically controllable elongation of the stem, e. g. the more powerful growth of the internodii, coincides with the initiation of the petals of the reproductive shoot apex (flower primordium) of the main axis.

#### Conclusions

Before summarizing and evaluating the observations on the development and organization of the vegetative and reproductive shoot apex of *P. somniferum* L., reference is made to BERSILLON's suggestions on the structure and function of the vegetative shoot apex of poppy, published in summary in 1951 [1].

Studying longitudinal sections he observed in the vegetative stem tip an external layer, consisting of 4 or 5 regular cell-rows, which in his opinion is not homogeneous. In the flanks he observed pronouncedly chromophil cells, but axially a meristematic zone with a decreased activity. The former he identified with the „initials ring” of the PLANTEFOL-concept, and for the latter he borrowed the terminology of other workers, calling it „Wartemeristem”. He

explains the arising of the pith-meristem viz. of the tissues of the pith, with the activity of a cell group underneath this "dormant" meristem. In his paper he reserves but little space for the description of the structure and loses therefore somewhat in clearness. BERSILLON's second work on *Papaver* was published in 1955, equally in summary [2]. In this paper he describes chiefly his observations on the transitory shoot apex; on the organizational conditions in the reproductive shoot apex he comments only shortly. His results are concordant with our observations in all but a few details. We were, however, unable to detect in the poppy the so called "transitory meristem" zone described first by HEGEDÜS [15] in the shoot apex.

The results of our observations thus may be summarized as follows:

1. During the development of the vegetative shoot apex alterations of form and zonation may be divided into three stages. In the course of the first stage with the embryo of the swelled seed and the vegetative stem tip having but a few foliage-leaf protuberances, the tip is nearly flat in shape and its zonation is simple: the two-layered tunica and, underneath it, the corpus initials meristem zone of a few cells are observable. In the second stage the shoot apex of the about 6 to 18 leaved plants is somewhat bigger and emerges conically. In the two-layered tunica the apically arranged initials group and the lateral zone separate. In the corpus, as derivatives of the initials group, the flank-, the rib-, and the pith meristem differentiate. In the third stage the stem tip elongates still further and assumes a vaulted shape. The number of the tunica layers increase to 4 or 5, but the difference between the apical and the lateral areas persists. A considerable increase in the tissue volume of the corpus has set in. The zones of the lateral, as well as of the pith meristem adhere to the initials group, whereas the rib meristem zone disappears gradually in consequence of the elongation of the mid-area of the shoot apex.

The initiation of the first foliage leaf outgrowth at the beginning of germination coincides with the rupture of the seed coat and may be ascribed to periclinal wall divisions in some cells in the second tunica layer. Any further initiation of leaf outgrowths occurs at  $135^\circ$  from one another, equally in the second tunica layer, independently of the single- or multi-layered nature of the tunica.

2. Alterations of form and zonation in the transitory and the reproductive shoot apex. The shoot apex of the transitory phase diverges from the previous stage in that it does not produce foliage leaf outgrowths any more, but proceeds to grow to a small extent and it enlarges finally in two-thirds of its upper volume. Its zonation is nearly consistent with that in the last stage of the vegetative development: the tunica is 4- or 5-layered and the zonation of the corpus does not show any considerable difference either.

Morphological changes in the reproductive shoot apex are correlated to the organization of the different floral zones: at the time of the differentiation

of sepal and petal outgrowths the cone shows a roughly hemispherical shape. Before the stamens start initiating, in the upper third area a circular hollow is produced. Beneath that hollow the stamen primordia arise acropetally arranged, and simultaneously the upper part broadens to a disclike configuration. In the peripheral area of the latter initiates the carpel region, viz. the primordia of the walls of the future pistil and its numerous placenta.

As to the zonation of the reproductive shoot apex it may be perceived that already at the formation of the sepal primordia the tunica decreases to three cell layers. In the formation of flower elements the third cell-layer of the lateral tunica area displays above all a great activity, as it is from here — through periclinal wall divisions — that evolve the initials of sepal, petal, stamen, as well as ovary-wall and placenta primordia. The external layers of the corpus constitute the axially arranged subtunical zone and the flank meristem. In the course of development (in the plane of the primordia) procambium bundles differentiate in the latter formation. At the same time the centrally located tissues of the pith meristem develop at the expense of the other zones of the corpus. In the transitory apex they still have a slenderly cylindrical shape, but later on they adopt a conical form and after more broadening they nearly fill out, at the time of pistil organization, the whole shoot apex.

3. For each developmental stage the zonation of the shoot apex, as described in the previous chapters, was checked by cytokinetic measurements and the variations in the activity of the meristematic zones were closely observed.

A recapitulative summing up of the cytokinetic measurements leads to the conclusion, substantiated by variations in the activity of the initials group of the tunica, that in the case of the poppy „Wartemeristem” [1] and „tunica initials group” are synonymous notions, as at the end of the vegetative phase an intensified meristematic activity of the initials group and later on in the reproductive phase, a marked activity of the apical tunica area may be observed. For all this it would not be correct to call the zone in question a sporogenous promeristem [3] because this apical zone does not exhibit any organ-producing character. In pursuance of our investigations we would suggest to deduce the primordia of stamens and pistil from the third layer of the lateral tunica.

4. It was not possible to observe, by means of cytokinetic measurements, in the shoot apex any contiguous histogen zone of “transitory meristem”. True, some smaller cell groups of only a few elements do occur above the zone of procambial differentiation and their cytokinetic values do in fact represent transitory values between the higher resp. lower regions, but these groups do not form any uninterrupted meristematic zone.

## REFERENCES

1. BERSILLON, G. (1951) Sur le point végétatif de *Papaver somniferum*. Structure et fonctionnement. *C. R. Acad. Sci.*, **232**, 2470—2472.
  2. BERSILLON, G. (1955) Sur la formation du bouton floral chez le *Papaver somniferum* L. *C. R. Acad. Sci.*, **240**, 903—905.
  3. BUVAT, R. (1951) Evolution histologique du point végétatif de *Myosurus minimus*. *C. R. Acad. Sci.*, **232**, 1011—1013.
  4. BUVAT, R. (1951) La structure de l'apex de *Myosurus*, établie d'après son fonctionnement. *C. R. Acad. Sci.*, **233**, 813—815.
  5. BUVAT, R. (1951) Transformation du point végétatif de *Myosurus minimus* en méristème floral. *C. R. Acad. Sci.*, **232**, 2466—2468.
  6. BUVAT, R. (1952) Structure, évolution et fonctionnement du méristème apical de quelques dicotylédones. *Ann. Sci. Nat., Bot.*, **13**, 199—300.
  7. DERMEN, H. (1947) Periclinal cytochimeras and histogenesis in strawberry. *Am. J. Bot.*, **34**, 32—43.
  8. DUNCKER, B. (1936) Bouw en secundaire diktegroeij van Kruidachtige planten met interfasciculair cambium. *Rec. Trav. Bot. Neder.*, **33**, 586—644.
  9. GIFFORD, E. M. (1951) Ontogeny of the vegetative axillary bud in *Drymlys*. *Am. J. Bot.*, **38**, 234—246.
  10. GRÁT, L. (1937) A szállítószövetrendszer kifejlődése a *Bidens tripartitus* szárában. Development of the vascular system in the stem of *Bidens tripartitus*. Diss., Budapest. (In Hungarian.)
  11. GRIFFITH, M. M. (1952) The structure and growth of the shoot apex of *Araucaria*. *Am. J. Bot.*, **39**, 253—263.
  12. GUTTENBERG, H. (1947) Studien über die Entwicklung des Vegetationspunktes der Dikotyledonen. *Planta*, **35**, 360—396.
  13. HALMAI, J. (1935) Szövettani tanulmány a *Centaurium umbellatum*-on, különös tekintettel a procambiumra és annak szerepére a szár szerkezetének megalakulásában. A histological investigation on *Centaurium umbellatum*, with special reference to the procambium and its rôle in the organization and structure of the stem. *Bot. Közl.*, **32**. (In Hungarian.)
  14. HEGEDÜS, Á. (1949) Az *Asarum europaeum* szárának és levelének szövetfejlődése. Histogenesis of the stem and leaf of *Asarum europaeum*. *Index Horti Bot. Univ. Budapest*, **7**, 48—62. (In Hungarian, with English summary.)
  15. HEGEDÜS, Á. (1954) Die Differenzierung der Meristeme im Sprosswegetationskegel. *Acta Bot. Hung.*, **1**, 47—59.
  16. HELM, J. (1931) Untersuchungen über die Differenzierung der Sprossscheitelmeristeme von Dikotylen unter besonderer Berücksichtigung des Prokambiums. *Planta*, **15**, 105—191.
  17. KOSTYTSCHEW, S. (1924) Der Bau und das Dickenwachstum der Dikotylenstämme. *Beih. Bot. Zbl. I.*, **40**, 295—350.
  18. LANCE, A. (1954) Evolution histologique de l'apex d'*Aster sinensis*. *C. R. Acad. Sci.*, **238**, 1442—1444.
  19. LANCE, A. (1954) Transformation du point végétatif d'*Aster sinensis* en méristème d'inflorescence. *C. R. Acad. Sci.*, **238**, 2437—2439.
  20. PHILIPSON, W. R. (1949) The ontogeny of the shoot apex in dicotyledons. *Biol. Rev.*, **3**, 1—20.
  21. PLANTEFOL, L. (1951) Phyllotaxy and vegetative point. *Scientia (Milano)*, **86**, 91—98.
  22. POPHAM, R. A. (1951) Principal types of vegetative shoot apex organisation in vascular plants. *Ohio J. Sci.*, **51**, 249—270.
  23. POPHAM, R. A., CHAN, P. H. (1950) Zonation in the vegetative stem tip of *Chrysanthemum morifolium*. *Am. J. Bot.*, **37**, 476—484.
  24. POTAPOV, N. G., MARÓTI, M. (1954) A bab gyökér- és szármerisztéma sejtjei növekedésének és osztódásának sajátosságai. Eigentümlichkeiten im Wachstum und Teilung der Meristazzellen der Wurzeln und Spross bei der Fisole. *Ann. Biol. Univ. Hung.*, **2**, 107—114. (In Hungarian, with German summary.)
  25. REEVE, R. M. (1948) The tunica-corpus concept and development of shoot apices in certain dicotyledons. *Am. J. Bot.*, **35**, 65—75.
  26. ROUFFA, A. S. (1951) A comparative study of vegetative shoot apices in the Rosaceae. *Am. J. Bot.*, **38**, 301—307.
  27. SÁRKÁNY, S. (1936) Über Entwicklung und Funktion des interfazikularen Cambiums bei *Ricinus communis*. *Jb. wiss. Bot.*, **82**, 625—656.
  28. SÁRKÁNY, S. (1937) Szövetfejlődési vizsgálatok az *Aristolochia siphon* szárában. Histo-

- logisch-entwicklungsgeschichtliche Untersuchungen im Stengel der *Aristolochia siphon*. *Bot. Közl.*, **34**, 120—140. (In Hungarian, with German summary.)
29. SCHMIDT, A. (1924) Histologische Studien an phanerogamen Vegetationspunkten. *Bot. Arch.*, **8**, 345—404.
30. TEPPER, S. S. (1953) Floral anatomy and ontogeny in *Aquilegia* and *Ranunculus repens*. *Univ. Calif. Publ. Bot.*, **25**, 513—618.
31. WARDLAW, C. W. (1953) Comparative observations on the shoot apices of vascular plants. *New Phyt.*, **52**, 195—209.
32. WHITE, J. B. (1955) The architecture of the stem apex and the origin and development of the axillary buds in the seedlings of *Acer pseudoplatanus*. *Ann. Bot.*, **19**, 437—448.

### ГИСТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ НАБЛЮДЕНИЯ НА КОНУСЕ НАРАСТАНИЯ СТЕБЛЯ МАКА (PAPAVER SOMNIFERUM L.)

Исходя из зародышевой почки семени до появления зачатки гинецея, авторы исследовали изменения формы, условия тканей и длительность развития сперва вегетативного, затем переходного, а наконец воспроизводительного конуса нарастания. В ходе своих методологических исследований они анализировали, главным образом, цитометрическим путем гистогенные зоны конуса нарастания и меристематический характер их непосредственных производных, также как и изменения, происходящие в данных областях тканей в ходе развития.

В развитии конуса нарастания мака, в отношении изменений формы конуса и его зонации наблюдаются 7 фаз. Три первые фазы имеют вегетативный, одна — переходный, а три последние фазы — воспроизводительный характер. — В первых двух фазах развития оболочка состоит из двухслойных клеток, в третьей и четвертой фазах она четырехслойная, тогда как в начале воспроизводительного состояния она состоит только из трех клеточных слоев. — В начале прорастания в вегетативном конусе нарастания под оболочкой наблюдается небольшое число инициальных телец и несколько меристематических клеток сердцевины. Несколько позже из инициальных телец отшнуровывается, с одной стороны, меристема становы жилы — а с другой, боковая меристема. Реберная меристема незначительной толщины функционирует в вегетативном конусе нарастания относительно короткое время, ибо она скоро преобразуется в сердцевенную меристему. — При так наз. анализе цитокара авторам не удалось убедиться в наличии описанных Хегедюшем в случае других растений «переходной меристемы» в виде связанный гистогенной зоны. — Листовые бугорки возникают — независимо от числа слоев оболочки — во втором слое оболочки, а цветочные бугорки начинают образоваться во внутреннем слое трехслойной оболочки. — При данных экспериментальных условиях вегетативная фаза развития конуса нарастания мака длится, считая с прорастания, примерно 40—45 дней, а развитие воспроизводительного конуса нарастания и закрытие завязи имеет место после дальнейших 15—20 дней.

### OBSERVATIONS HISTOGENETIQUES SUR L'APEX DE PAPAVER SOMNIFERUM L.

Les auteurs ont étudié, de la plumule de l'embryon à l'apparition du pistil primordial, — d'abord dans le méristème végétatif, puis transitoire et enfin floral, les modifications morphologiques, les conditions histologiques et la durée du développement de l'apex de *Papaver somniferum* L.

Ce fut avant tout par voie cytométrique que les régions histogènes et l'activité méristématique de leurs descendances directes, de même que les changements se produisant dans ces zones, ont été observés. Les résultats obtenus peuvent être résumés en ce qui suit : Au cours du développement de l'apex de *P. somniferum*, sept phases peuvent être distinguées par rapport aux changements de forme, et aux diverses régions composant l'apex. Trois de ces phases sont de caractère végétatif, la quatrième est une phase de transition, tandis que les trois dernières présentent un caractère réproductif. Au cours des deux premières phases d'évolution, la tunica se compose de deux, dans la troisième et quatrième de quatre à cinq, et à partir du début du stade réproductif, seulement de trois assises cellulaires.

Au commencement de la germination on trouve dans le point végétatif, au dessous de la tunica, quelques initiums du corpus et quelques cellules médullaires méristématiques. Les premières édifieront d'une part le méristème à côtes et d'autre part le méristème latéral. Le méristème à côtes à masse insignifiante, ne fonctionnera dans le point végétatif que pendant une période relativement courte, puisque bientôt il va se transformer en méristème médullaire. L'analyse dite «analyse cytokar» (le rapport entre le diamètre de la cellule et celui du nucléus) n'a pas réussi à convaincre les auteurs de la présence — sous forme d'une zone histogène continue — du «méristème transitoire» décrit par HEGEDÜS dans d'autres plantes. — Les primordiums des feuilles s'initieront indépendamment du nombre des assises composant la tunica, dans la seconde assise tunicale, tandis que les régions florales seront initiées dans la plus profonde des trois assises de la tunica. Dans les conditions expérimentales données, la phase végétative du développement de *P. somniferum* dure de 40 à 50 jours à partir de la germination, et pour la clôture du pistil primordial encore 15 à 20 jours seront nécessaires.

SÁNDOR SÁRKÁNY, Budapest, VIII., Múzeum krt. 4/a. Hungary.

ENDRE PERCS, Budapest, VIII., Múzeum krt. 4/a. Hungary.



# QUANTITATIVE ANALYSE DER BENTHOS-BACILLARIOPHYCEEN IN DEN QUELLGEBIETEN VON TAPOLCAFÓ

G. SZEMES

SYSTEMATISCH-GEOBOTANISCHES INSTITUT DER EÖTVÖS LORÁND UNIVERSITÄT, BUDAPEST  
(VORSTAND: R. SOÓ)

(Eingegangen am 20. März 1956)

## Zusammenfassung

Am westlichen Rand des Bakonygebirges, in den karstigen Kalkfelsen bei Tapolcafo, brechen auf einem verhältnismässig kleinen Gebiet, aus kessel-, korb- und muldenförmigen Vertiefungen viele wasserreiche Quellen an die Oberfläche hervor. Die Wände der Quellbecken sind mit Algen bewachsen. Da Wasserertrag, Temperatur und chemische Zusammensetzung der Quellen keinen Veränderungen unterworfen sind, wird auch das Benthos durch eine Stabilität charakterisiert.

In demselben Quellbecken sind in unmittelbarer Nähe zueinander strömungsgeschützte Teile, kleine Buchten, Seitenwände mit ruhig fliessendem Wasser, Randteile mit starker fliessendem Wasser, Quellausflüsse mit rauschend strömendem Wasser usw. zu finden. In diesen, ökologischer Hinsicht verschiedenen Quellen ist auch die Zusammensetzung des Benthos jeweils anders. In den gleichartigen Gebieten der verschiedenen Quellen zeigt auch das Benthos den gleichen Charakter.

Da innerhalb einzelner Quellbecken, bezüglich der ökologischen Verhältnisse hauptsächlich in der Schnelligkeit der Wasserbewegung ein Unterschied besteht, wird auch die Zusammensetzung des Benthos durch den Unterschied bestimmt, der in der Schnelligkeit der Wasserbewegung zutage tritt.

Wie reich an Arten das Quellgebiet von Tapolcafo ist, geht auch daraus hervor, dass drei Quellen allein 154 verschiedene Arten und Varietäten der Kieselalge aufwiesen. Die Verteilung der Arten ist in den verschiedenen Teilen der Quellbecken jeweils anders.

Wo extreme Lebensbedingungen bestehen, also an den Ausfluss-Stellen mit rauschend strömendem Wasser, in sehr schnell fliessenden Quellteilen, ist stets Armut an Arten zu finden. So wird zum Beispiel an der Ausflussstelle mit schnell fliessendem Wasser der Teknös-Quelle das Benthos am felsigen Grund von 18 Bacillariophyceen, in der Kibugyanó-Quelle von 13 und an derselben Stelle der Mosó-Quelle von nur 7 Bacillariophyceen gebildet, — *Achnanthes minutissima* KÜTZ., *A. minutissima* var. *cryptocephala* GRUN., *Cymbella affinis* KÜTZ., *Achnanthes exilis* KÜTZ., *A. Clevei* GRUN. sind die bezeichnendsten Glieder an den Ausflussstellen mit schnell strömendem Wasser. *Achnanthes minutissima* und ihre Varietät kommen fast in Reinkultur, mit einer 99—100%igen Häufigkeit vor, so dass die Häufigkeit der anderen Arten nur als sporadisch bezeichnet werden können. Für das Benthos an den Ausflussstellen der Quellen mit rauschend strömend Schnellen sind wenige Arten und viele Individuen bezeichnend.

Gegenüber der Armut an Arten, die an Stellen mit rauschend strömendem Wasser und auf Gebieten mit schnell fliessendem Wasser zu finden ist, werden die strömungsfreien, besser geschützten Stellen und Buchten der Quellbecken durch die grosse Anzahl der Arten charakterisiert. Die Anzahl der das Benthos bildenden Bacillariophyceen beträgt an den strömungsgeschützten Stellen der Mosó-Quelle 68, an den ähnlichen Stellen der Teknös- und der Kibugyanó-Quelle 55—66. Am bezeichnendsten ist das häufigere Vorkommen von *Fragilaria pinnata* EHR. und *Fr. intermedia* GRUN. Die erstere erreicht eine Häufigkeit von 20—30%, die letztere eine solche von 10%.

Die relativen Häufigkeitswerte der Arten lassen deutlich erkennen, dass auf dem Gebiete eines jeden Quellbeckens der Grad der Wasserströmung der Faktor ist, der in der Selektion und Verteilung der Benthos-Arten eine entscheidende Rolle spielt.

## Einleitung

Am westlichen Rand des Bakonygebirges — bei der Gemeinde Tapolcafő — brechen wasserreiche Karstquellen aus dem Boden hervor. Die Quellen entspringen in einer Höhe von 173—171 m über dem Meeresspiegel. Auf einem verhältnismässig kleinen Gebiet entstehen mehr als 25 Quellen. Das Wasser des am höchsten liegenden Quellbeckens wird in unterirdischen Röhren, mit Hilfe einer Gravitationsleitung, in die 7 km entfernt liegende Stadt Pápa geführt und der Wasserverbrauch der Stadt auf diese Weise gesichert.

### *Die Hydrogeologie der Quellen*

Das Wasser im Quellgebiet von Tapolcafő ist Karstwasser. Die Quellen entspringen aus spätkreidezeitlichem Kalkstein, der in Schichten mit  $225^{\circ}/13-15^{\circ}$  Neigung zum Vorschein kommt. Das sich mit der Hydrogeologie der Quellen beschäftigende Manuskript wurde uns von KESSLER zur Verfügung gestellt. Die Quellen entspringen in einer Tiefe von ungefähr 200 m, entlang der zwischen den mesozoosen und pannonen Gebilden liegenden Bruchlinie. Ihre Temperatur ist ungefähr um  $6-8^{\circ}$  höher als die jährliche Durchschnittstemperatur. Der hohe Magnesiumgehalt des Wassers lässt darauf schliessen, dass sich unter dem Kalkstein vermutlich triaszeitlicher Dolomit befindet. Bei den aus Kalkstein entspringenden Quellen pflegte das Verhältnis zwischen Kalzium und Magnesium  $5:1-10:1$  zu betragen.

### *Aussere Beschreibung, Charakterisierung der Quellbecken*

Die Quellhöhlen mit abgerundeten Wänden und die eckigen Schichtköpfe können in unmittelbarer Nähe, in scharfem Kontrast zueinander, beobachtet werden. Auch die ausgetrockneten Quellbecken zeigen recht verschiedene Formen.

Zu Füssen des kalkfelsigen Abhanges, in der Nähe des Seeniveaus, brechen aus kessel-, korbförmigen und muldenförmigen Vertiefungen wasserreiche Quellen an die Oberfläche hervor. Das Wasser füllt die glattwandigen Felsbecken vollständig aus. Aus den oben enger werdenden Öffnungen der Becken strömt das Wasser durch den muldenförmig abgenützten Teil des Randes schnell herab. Auf den höher liegenden Stellen des kalkfelsigen Abhanges, bildeten sich, abweichend von den Seebecken, flach ausgebreitete sickernde Quellen. Im nördlichen Teil des sog. Südlichen Quellsees sprudelt das Wasser aus den waagrecht verlaufenden Höhlen der senkrecht stehenden Felsenwände hervor. Die Temperatur der Quellen ist, wie bereits erwähnt, um  $6-8^{\circ}$  höher als der Jahresdurchschnitt, so dass die Dorfbewohner ihre Wäsche auch im Winter hier reinigen und spülen können (Abb. 1).

### *Quellseen*

Die Ufer des Südlichen Quellsees sind von wasserreichen Quellen umrändert, die alle in den See münden. Der Südliche Quellsee hat eine ellbogenartig gebrochene längliche Form. Im Westen ist der See von einer Steinmauer begrenzt. Die Ufer und das Bett des Sees sind aus Kalkfelsen. Das Wasser des Sees ergiesst



*Abb. 1. Die »Mosó-Quelle«, mit dem breiter werdenden Tapolca-Bach im Hintergrund*

sich unter der Brücke der Mühle in den Nördlichen See, der auch Mühlsee genannt wird. Auch hier entspringen aus dem felsigen Grund zahlreiche Quellen. Das schier rhythmisch hervorbrechende Quellwasser bringt viele Luftblasen, Sand, Kohlensplitter auf die Oberfläche. Dieses rhythmisch perlende Hervorquellen tritt am bezeichnendsten im »Wirbelsee« der Nördlichen Quellgruppe zutage. Am Boden des Sees befinden sich kreisförmige, weisse Sandflecke von 2—3 m Durchmesser. Die kalkweissen Sandflecke unterscheiden sich auffallend von dem dunkleren, mit Schlamm und Laubabfall bedeckten Seeboden.

Aus der Vereinigung der südlichen und nördlichen Quellgruppen entsteht der Tapolca-Bach (Abb. 2).



Abb. 2. Die »Teknős-Quelle« mit dem Ursprung des Tapolca-Baches

#### *Der Wasserertrag der Quellen*

Die diesbezüglichen Messungen wurden von dem Wissenschaftlichen Forschungsinstitut für Wasserwirtschaft durchgeführt. Die summierte Wassermenge zu verschiedenen Messzeitpunkten gibt die Tabelle 1 an.

Zur obigen Wassermenge muss auch noch die hinzugefügt werden, die zur Versorgung der Stadt Pápa benötigt wird (25—40 l/Sek.). Die Angaben beweisen die Reichlichkeit und Stabilität des Wasserertrags.

#### *Die Temperatur der Quellen*

Angaben bezüglich der Temperaturverhältnisse des Quellgebietes veröffentlichten früher KOCH (1870), MOHÁCSI (1905), TAEGER (1914). Auch das Ingenieuramt der Stadt Pápa besitzt neuerdings derartige Messungen. SZEMES nahm

Tabelle 1

Datum	Wasserertrag
9. Juli 1940	685 l/Sek.
15. Juli	615 " "
25. Juli	730 " "
21. März 1952	660 " "
24. April	573 " "
23. Juni	616 " "
16. Juli	620 " "
18. August	675 " "
23. September	663 " "
29. Oktober	672 " "
28. November	596 " "
23. Februar 1953	699 " "
24. März	736 " "
24. April	684 " "

im Jahre 1937 Messungen vor. JASKÓ [14] studierte zwischen 1933 und 1935 systematisch die Temperaturverhältnisse des Quellgebietes. Seine Ergebnisse veranschaulicht die Tabelle 2.

Aus obiger Tabelle geht hervor, dass sich die Temperatur der Quellen von Süden nach Norden erhöht. Die zwischen 1933 und 1935 durchgeföhrten Messungen bestätigen den stabilen Charakter in den Temperaturverhältnissen der Quellen. An denselben Quellaufbruchstellen beträgt die maximale Schwankung 0,2—0,7°. Die Quellen von Tapolcafö gehören zu den heterothermen Quellen und sind im Laufe der verschiedenen Jahreszeiten keinen Temperaturschwankungen unterworfen.

#### *Die chemische Zusammensetzung der Quellwässer*

Die diesbezüglichen Angaben wurden uns vom Wissenschaftlichen Institut für Wasserwirtschaft zur Verfügung gestellt (Tabelle 3). Aus den Analysen geht hervor, dass die Gesamthärte des Wassers an den Aufbruchstellen zwischen 19,4—21,2 schwankt. Die Veränderlichkeit in der Härte steht, nach Mitteilungen von KESSLER [15], wie bei den Karstquellen im allgemeinen, nahe zu allen Härtewerten. Das Verhältnis zwischen Kalzium und Magnesium beträgt annähernd 2 : 1. Dieser Umstand weist auf den Dolomitursprung, welches Gestein unterhalb des Kalksteins vermutet werden kann. Das Wasser ist vollkommen geruch- und geschmacklos. Eine Trübung desselben konnte selbst im Falle grösserer Niederschläge nicht beobachtet werden. Anlässlich der bei dem Wasser-

werk von Pápa durchgeföhrten bakteriologischen Untersuchungen konnten im Quellwasser keine Kolibakterien festgestellt werden.

Auf Vorschlag des Wissenschaftlichen Forschungsinstituts für Wasserwirtschaft soll die Wasserversorgung des erweiterten Kraftwerks von Ajka mit Hilfe der Karstquellen von Tapolcafö durchgeföhrt werden. Es ist geplant, das Wasser in einer 21,5 km Druck- und 8 km. Gravitationsleitung nach Ajka zu föhren. Die sporadisch hervorbrechenden Quellen werden vorher mit Hilfe einer vertieften Galerie oder eines Sammelschachtes konzentriert.

### *Die höhere Pflanzenwelt der Quellgebiete*

Diesbezügliche Angaben wurden von BOROS [3] veröffentlicht. Bei den Quellen, auf wassergewiechten Steinen fand er folgende Pflanzen: *Marchantia polymorpha* L., *Bryum turbinatum* SCHWGR., *Fontinalis antipyretica* L., *Amblystegium Kochii* B. E., *Cratoneurum filicinum* (L.) MOENKEM., *Eurhynchium rusciforme* (NECK.) MILDE, *Sagina procumbens* L., *Saxifraga tridactylites* L. Im Wasser und an den Ufern des Tapolcabaches, »ein wenig unterhalb der Quelle, am Rande des Dorfes«, erwähnt der Forscher folgende Pflanzen: *Potamogeton coloratus* VAHL., *P. crispus* L., *P. pusillus* L., *Zannichellia palustris* L. f. *pedicellata* (WHLBG. & ROSÉN), *Carex gracilis* CURT., *C. paniculata* L. Ergänzend sei hier noch erwähnt, dass BOROS auf den benachbarten, aber in vorliegender Arbeit nicht behandelten Quellgebieten von Attya, das dortige Vorkommen der *Hildebrandia rivularis* (LIEBEN) AGARDH feststellte.

### **Die quantitative Analyse der Benthos-Bacillariophyceen auf den Quellgebieten**

Die Quellbecken verschiedener Form, die Abflüsse, die Wasseradern, die Wasserfälle, die kleinen Buchten mit stehendem Wasser, die schnell fliessenden Bächlein, die sickernden Quellen der Felsen, die wasserberieselten Felsenwände bieten zur Ansiedlung der Bacillariophyceen verschiedene, voneinander abweichende Möglichkeiten. Der strömende oder fliessende Charakter des Wassers, sein langsamer oder schneller Lauf, sind Umstände, die die Zusammensetzung des Benthos beeinflussen [8].

**Arbeitsmethode.** Auf dem an Quellen reichen Gebiet wählten wir, in diesem ersten Teil unserer Arbeit, für die Zwecke einer ausführlichen Untersuchung drei, auch in den ökologischen Gegebenheiten vergleichbare Quellbecken. Vor allem wird festgestellt, welche Arten von Bacillariophyceen vorhanden sind und in welchem Masse sie an der Ausbildung des Benthos teilnehmen. Es wurden folgende Quellen untersucht: I. Die *Mosó-Quelle*, eine der wasserreichsten Quellen des Gebiets. II. Die *Teknós-Quelle*, die am höchsten liegende Quelle des

Tabelle 2

Datum	Luft-temperatur	Wasser-leitung	Südlicher See						Nördlicher See			Wirbelsee		
			1	3	12	20	23	24	25	26	27	35	36	37
5. Juli 1933 .....	+ 26,7	15,2	—	15,0	—	15,5	15,5	—	—	—	—	—	17,8	—
9. Oktober 1934 .....	+ 15,7	15,0	15,0	15,0	15,0	—	15,8	15,9	16,0	16,3	16,5	17,5	18,1	17,8
29. Oktober 1934 .....	+ 7,5	15,1	15,0	14,7	15,0	15,6	15,9	15,6	16,1	16,3	16,1	17,3	18,1	17,4
1. November 1934 .....	+ 4,5	14,5	14,5	15,0	—	15,5	15,5	15,9	16,5	17,0	16,1	17,5	—	17,5
2. Februar 1935 .....	+ 2,0	14,8	14,8	14,9	15,2	15,5	15,8	15,2	16,5	—	16,5	17,7	18,5	18,0
3. Februar 1935 .....	— 1,0	14,8	14,9	15,0	15,0	15,4	15,8	15,5	16,3	16,8	16,5	17,5	18,4	17,9
Durchschnittlicher Mittelwert	—	14,9	14,9	14,8	15,1	15,5	15,7	15,6	16,2	16,6	16,4	17,5	18,2	17,6
Maximum der Schwankung ..	—	0,7	0,5	0,3	0,2	0,2	0,4	0,7	0,5	0,7	0,4	0,4	0,7	0,6

Tabelle 3

	Benennung der Punktes des Wasserentnahm							
	Wirbelquelle	1	4	5	6	7	8	9
Temperatur .....	17,8	15,9	15,7	15,5	15,6	15,3	15,5	15,5
Elektr. Widerstand Ω/cem .....	1573	1507	1529	1520	1517	1468	1510	1529
Gesamthärte n° .....	19,9	20,0	20,5	20,3	19,6	21,2	19,8	19,4
Veränderliche Härte n°	18,4	—	18,9	18,5	19,2	20,1	16,5	18,5
Kalzium mg/l .....	72,5	71,4	68,1	79,7	82,0	88,6	72,5	65,4
Magnesium Mg/l .....	53,1	43,5	47,5	39,7	35,4	38,5	42,2	43,5
HCO <sub>3</sub> mg/l .....	—	294,6	411,3	402,6	417,9	439,2	359,9	294,6

\*Es ist anzunehmen, dass in der chemischen Zusammensetzung der einzelnen Quellaufbrüche dieselbe Stabilität besteht wie im Wasserertrag und in den Temperaturverhältnissen (KESSLER).

Gebiets. III. Die *Kibugyanó-Quelle* im untersten Teil des Südlichen Sees. Für die Zwecke der ausführlichen Analyse wurden aus jedem Quellbassin sechs Proben genommen. Die einzelnen Sammelgebiete und die von dort stammenden Bacillariophyceen werden im Laufe der eingehenden Bearbeitung besprochen.

Die gewählten Benthos-Proben wurden zuerst im lebenden Zustand untersucht. Zur Bestimmung der Epiphyta-Diatomeen ist auch das Studium der Gallerte-Polster-Stiele und -Schläuche nötig. Das in lebendem Zustand bereits untersuchte Material wurde in einer konzentrierten  $H_2SO_4$ -Lösung zerstört und mit  $KNO_3$  oxydiert. Nach mehrfachem Zentrifugieren und Spülen mit Wasser wurde das neutrale Material nach dem KOLBE—WISLOUCH-Verfahren in Piperin-Cumaron fixiert. Die Bestimmungen wurden im Sinne der Arbeiten von HUSTEDT durchgeführt [10, 11]. Ferner verwendeten wir die zusammenfassenden Arbeiten von CLEVE-EULER [7]. Bei der quantitativen Bearbeitung des Versuchsmaterials gelangte die Methode von THOMASSON [25] und CHOLNOKY [4, 5, 6] zur Anwendung. Bei der Feststellung des relativen Häufigkeitskoeffizienten wurden von den artenreichen Proben bis zu 400 überprüft. Die Proben stammen vom August 1937. her.

In seinem Buch, das sich ausführlich mit der Ökologie der Diatomeen beschäftigt, wies KOLBE [17] auf den wenig bekannten Charakter der Quellen. Die Benthos-Analysen von CHOLNOKY [4, 5] sind von bahnbrechender Bedeutung. In den Abhandlungen versucht er, durch eine eingehendere Analyse der ökologischen Verhältnisse im allgemeinen kleinerer Gebiete, die Verbreitung der Bacillariophyceen zu bestimmen. Seine Methode leistete uns schon früher gute Dienste [21, 22]. Einen grossen Fortschritt bedeuten im Weltmaßstab die Studien von HUSTEDT [12, 13]. Seine Bearbeitung der Diatomeen von Java, Bali und Sumatra zeitigte viele neue Ergebnisse. Von den Arbeiten, die sich mit den biologischen Verhältnissen der fliessenden Gewässer beschäftigen, verdienen neuerdings die Abhandlungen von WEHRLE [26], ferner von RAABE [19], ENTZ und Mitarbeiter [7a] und SCHEELE [20] hervorgehoben zu werden. — Die Arbeiten von KRASSKE, des hervorragenden Kenners der »kleinwinzigen« Diatomeen, die sich mit den Kieselalgen der Bäche und Quellen beschäftigen, haben vor allem systematischen Charakter. — In vorliegender Abhandlung stellte sich der Verfasser die Aufgabe, unter verschiedenen ökologischen Verhältnissen und unter Berücksichtigung von verschiedenen Faktoren des äusseren Milieus, eine Beschreibung der quantitativen analytischen Ergebnisse seiner durchgeführten Benthos-Untersuchungen zu geben.

## I. Die Bacillariophyceen der Mosó-Quelle

Die Mosó-Quelle ist eine der grössten, wasserreichsten Quellen des Quellgebietes von Tapolcafő. Der obere Durchmesser des in den Kalkfelsen einge-

tieften Quellbassins beträgt 1 m, der untere Durchmesser 0,70 m, die Tiefe 0,80 m. Die Wände des Bassins sind mit einem dichten Moosteppich bedeckt. Dieser Moosteppich ist von Cyanophyten-Rasen durchzogen. Das Steinbänkchen hinter dem Quellbassin wird von einer seichten, beweglichen Wasserschicht berieselt. Auf dem Gebiete des Steinbänkchens zeigt das Wasser teils einen ruhig-langsamen, teils einen schnellen Lauf. Sowohl diese Gebiete wie auch der das Quellgebiet reichlich versorgende Wasserfall und die minder schnell fliessenden Seitenadern, ferner die Ränder der letzteren bieten auf kleinem Gebiete ausgezeichnete Möglichkeiten, die Ansiedlung der Bacillariophyceen zu studieren. Zur Erforschung der Benthos-Bacillariophyceen wählten wir in diesem Quellbassin sechs verschiedene, auch vom ökologischen Gesichtspunkt gut trennbare Stellen aus.

### 1. Der Moosrasenüberzug am felsigen Grund des Quellbassins — in strömendem Wasser

Der Felsgrund des Bassins ist mit einem zusammenhängenden Moosteppich bedeckt. Die Wassertiefe beträgt 70 cm. Auf dem felsigen Grund des Quellbeckens ist das Wasser in ständiger Bewegung, doch ist diese nicht stark, da das Wasser keine Strömung aufweist.

Wir geben die quantitative Zusammensetzung der Bacillariophyceen:

<i>Achnanthes minutissima</i> .....	37,40%
<i>Synedra ulna</i> .....	15,00%
<i>Meridion circulare</i> .....	13,30%
<i>Amphora ovalis</i> var. <i>pediculus</i> .....	8,30%
<i>Amphora perpusilla</i> .....	5,00%
<i>Caloneis bacillum</i> .....	5,00%
<i>Cocconeis placentula</i> .....	5,00%
<i>Achnanthes lanceolata</i> var. <i>elliptica</i> .....	1,60%
<i>Cocconeis placentula</i> var. <i>euglypta</i> .....	1,60%
<i>Achnanthes lanceolata</i> var. <i>rostrata</i> .....	1,30%
<i>Cymbella microcephala</i> .....	1,30%
<i>Caloneis silicula</i> var. <i>truncatula</i> .....	1,00%
<i>Nitzschia sublinearis</i> .....	1,00%

Folgende Arten sind an der Ausbildung des Benthos mit einer geringeren als 1%igen Häufigkeit beteiligt:

<i>Achnanthes exilis</i>	<i>Navicula Kotschyi</i>
— <i>lanceolata</i>	<i>Nitzschia capitellata</i>
<i>Cyclotella Meneghiniana</i>	

Ganz sporadisch kommen vor:

<i>Achnanthes Clevei</i>	<i>Nitzschia dissipata</i>
<i>Fragilaria brevistriata</i>	— <i>fonticola</i>
— <i>pinnata</i>	

65,70% der den Moosrasenüberzug bildenden Bacillariophyceen werden von drei Arten — *Achnanthes minutissima*, *Synedra ulna* und *Meridion circulare* — gegeben. Die Anzahl der quantitativ analysierten Arten und Varietäten der Bacillariophyceen beträgt 18. Von diesen kommen fünf Kieselalgen mit einer Häufigkeit vor, die sich unter 1% bewegt. Vereinzelt konnten noch fünf Arten von Bacillariophyceen beobachtet werden. Ihre Gesamtzahl beträgt also 23.

### 2. Der Moosrasenüberzug auf den Seitenwänden des oberen Aussenrandes — in strömendem Wasser

Die seitlichen Felsenwände des Bassins sind überall mit Moosrasen bedeckt. Das hervorbrechende Wasser begießt die Moosrasen, die mit gelblichbraunen Kieselalgen dicht durchwachsen sind, mit einem ständig gleichmässigen Wasserstrom mässiger Geschwindigkeit. Werte der quantitativen Analyse :

<i>Achnanthes minutissima</i> .....	92,00%
<i>Amphora perpusilla</i> .....	5,00%
<i>Amphora ovalis</i> var. <i>pediculus</i> .....	3,00%

Vereinzelt, in ganz wenigen Exemplaren sind anzutreffen :

<i>Achnanthes Clevei</i>	<i>Navicula placentula</i>
— <i>exilis</i>	— <i>pupula</i>
<i>Cymbella affinis</i>	<i>Nitzschia capitellata</i>

Auf den Moosrasen mit gleichmässiger Wasserströmung kommt die *Achnanthes minutissima* so häufig vor, dass im Vergleich zu ihr das Vorkommen der übrigen Arten als verschwindend gering bezeichnet werden muss. Quantitativ analysiert sind insgesamt 3, sporadisch nachgewiesen 6 Arten. Insgesamt sind also 9 Arten an der Ausbildung des Benthos beteiligt.

### 3. Das Benthos des unteren, besser geschützten Teiles des Quellbassins — an strömungsfreieren Stellen

In dem Quellbassin sind auf den dem Wasseraufbruch gegenüberliegenden Seiten auch geschütztere Stellen anzutreffen. Zwischen den Fadenalgen der geschützten Stellen sowie im angesammelten Detritus befinden sich viele Diatomeen. Im Detritus bzw. auf den feinen Körnchen des zermalmten Abfalls pflanzlichen Ursprungs sowie auf den Fadenalgen sind sehr viele Bacillariophyceen zu finden. Es folgen die Ergebnisse der quantitativen Analyse :

<i>Fragilaria pinnata</i> .....	9,50%
<i>Achnanthes lanceolata</i> var. <i>rostrata</i> .....	8,50%

— <i>minutissima</i> .....	7,50%
<i>Cymbella microcephala</i> .....	7,00%
<i>Amphora perpusilla</i> .....	6,75%
<i>Fragilaria leptostauron</i> var. <i>dubia</i> .....	4,50%
<i>Achnanthes Clevei</i> .....	4,00%
<i>Fragilaria pinnata</i> var. <i>lancettula</i> .....	4,00%
— <i>pinnata</i> var. <i>elliptica</i> .....	3,75%
<i>Gomphonema angustatum</i> .....	3,25%
<i>Achnanthes andicola</i> .....	2,74%
— <i>lanceolata</i> .....	2,50%
<i>Navicula Reinhardtii</i> .....	2,50%
<i>Fragilaria intermedia</i> .....	2,25%
<i>Navicula rhynchocephala</i> .....	2,25%
<i>Gomphonema parvulum</i> .....	2,00%
<i>Navicula placentula</i> f. <i>jenisseiensis</i> .....	2,00%
<i>Gomphonema olivaceum</i> .....	1,75%
<i>Navicula simplex</i> .....	1,50%
<i>Stauroneis Smithii</i> .....	1,50%
<i>Achnanthes exilis</i> .....	1,25%
<i>Achnanthes lanceolata</i> var. <i>elliptica</i> .....	1,25%

In einer 1%igen Häufigkeit kommen vor :

<i>Achnanthes linearis</i>	<i>Navicula Grimmei</i>
<i>Caloneis bacillum</i>	— <i>menisculus</i>
<i>Fragilaria brevistriata</i> var. <i>inflata</i>	<i>Nitzschia sinuata</i>
<i>Gomphonema parvulum</i> var. <i>micropus</i>	

Mit einem geringeren als 1%igen Wert, doch quantitativ noch nachweisbar, kommen folgende Arten vor :

<i>Achnanthes microcephala</i>	<i>Epithemia sorex</i>
<i>Anomoeoneis styriaca</i>	— <i>turgida</i>
<i>Caloneis bacillum</i> var. <i>lancettula</i>	<i>Eunotia praerupta</i>
<i>Caloneis silicula</i> var. <i>truncatula</i>	<i>Gomphonema augur</i>
<i>Cocconeis pediculus</i>	<i>Navicula radiosa</i>
— <i>placentula</i>	<i>Pinnularia microstauron</i>
<i>Cyclotella Meneghiniana</i>	<i>Rhoicosphenia curvata</i>
<i>Diatoma vulgare</i> var. <i>producta</i>	<i>Rhopalodia gibba</i>
<i>Diploneis ovalis</i>	

Ausser den auch quantitativ analysierten Bacillariophyceen kommen ganz vereinzelt noch folgende vor :

<i>Cocconeis placentula</i> var. <i>lineata</i>	<i>Gomphonema longiceps</i>
<i>Cymbella prostata</i>	— <i>olivaceum</i> var. <i>calcarea</i>
— <i>tumidula</i>	
— <i>ventricosa</i>	
<i>Epithemia turgida</i> var. <i>granulata</i>	<i>Meridion circulare</i>
<i>Fragilaria capucina</i>	<i>Navicula bicapitellata</i>
— <i>leptostauron</i>	— <i>cryptocephala</i>
<i>Frustulia rhomboides</i>	— <i>cryptocephala</i> var. <i>intermedia</i>
— <i>vulgaris</i>	— <i>dicephala</i>
<i>Gomphonema acuminatum</i> var. <i>coronata</i>	— <i>exigua</i>
— <i>bohemicum</i>	<i>Nitzschia amphibia</i>
	— <i>dissipata</i>
	— <i>fonticola</i>

Die an Bacillariophyceen bzw. an ihren Arten reichsten Stellen der Mosó-Quelle sind die vor Strömung geschützten ruhigen Quellwinkel. Ausser den

lebenden Blau- und Grünalgen, boten die feinen Körnchen der schlammartig angehäuften Moos- und Algenabfälle eine gute Möglichkeit für die Ansiedlung der Bacillariophyceen. Als häufigstes Benthosglied kommt die *Fragilaria pinnata* mit einer Häufigkeit von 9,50% vor und ist nicht so sehr auf den Fadenalgen als viel eher zwischen den Schlammkörnchen oft zu finden. Auch hier ist sie nicht vereinzelt, sondern in Siedlungen, in kleineren-grösseren Knoten anzutreffen. An zweiter Stelle nimmt *Achnanthes lanceolata* mit einer 8,50%igen Häufigkeit an der Ausbildung des Benthos teil, während die *Cymbella microcephala* mit 8% an dritter Stelle steht. Die beiden zuletzt genannten Arten leben hauptsächlich auf den Blau- und Grünalgen. Die Anzahl der quantitativ analysierten Arten und Varietäten der Bacillariophyceen beträgt 46. Von diesen kommen 22 Arten und Varietäten der Kieselalgen in einer Häufigkeit von 9,50—1,25% vor. Eine 1%ige und noch geringere Häufigkeit zeigen 7 + 17 Arten der Kieselalgen, die Anzahl der ganz vereinzelt vorkommenden beträgt 22. Die besser geschützten und geschlossenen Gebiete sichern den meisten Diatomeen günstigere Ansiedlungsmöglichkeiten als die Gebiete, die einer stärkeren Strömung ausgesetzt sind.

#### 4. Der Kieselalgenbewuchs auf dem Steinbänkchen des Quellbassins — in langsam fliessendem Wasser

Hinter dem Becken der Mosó-Quelle befinden sich glatte flache Steinbänkchen. Über die meisten rollt das hervorbrechende Quellwasser hinweg. Über den seichten abfallenden Steinbänkchen fliessst das Wasser langsamer. Unter der langsam fliessenden dünnen Wasserschicht befindet sich ein zusammenhängender einheitlicher Bacillariophyceen-Teppich, der von Fäden der Blau- und Grünalgen durchzogen ist. Die Algendecke ist 0,3—0,5 cm dick und lässt sich weich, wie Samt und Seide, anführen. Wir geben anschliessend die quantitative Analyse der Bacillariophyceen :

<i>Achnanthes minutissima</i> .....	17,00%
<i>Cocconeis pediculus</i> .....	8,00%
— <i>placentula</i> var. <i>euglypta</i> .....	6,00%
<i>Amphora perpusilla</i> .....	6,00%
<i>Achnanthes lanceolata</i> var. <i>rostrata</i> .....	5,66%
<i>Amphora ovalis</i> var. <i>pediculus</i> .....	5,66%
<i>Cocconeis placentula</i> .....	5,00%
<i>Achnanthes Clevei</i> .....	3,00%
— <i>lanceolata</i> .....	3,00%
— <i>lanceolata</i> var. <i>elliptica</i> .....	3,00%
<i>Cymbella affinis</i> .....	2,60%
<i>Epithemia sorex</i> .....	2,60%
<i>Fragilaria pinnata</i> .....	2,60%
<i>Achnanthes linearis</i> .....	2,00%
<i>Gomphonema bohemicum</i> .....	2,00%
<i>Meridion circulare</i> .....	2,00%
<i>Gomphonema parvulum</i> var. <i>micropus</i> .....	1,11%

<i>Navicula cryptocephala</i> .....	1,11%
<i>Nitzschia Kützingiana</i> .....	1,11%

Mit einer 1%igen Häufigkeit kommen vor :

<i>Achnanthes lanceolata</i> var. <i>capitata</i>	<i>Fragilaria intermedia</i>
<i>Amphora ovalis</i>	<i>Gomphonema olivaceum</i>
<i>Caloneis bacillum</i>	<i>Navicula exigua</i>
— <i>silicula</i> var. <i>truncatula</i>	<i>Nitzschia capitellata</i>
<i>Cocconeis diminuta</i>	— <i>linearis</i>
<i>Denticula tenuis</i> var. <i>crassula</i>	— <i>palea</i>

Mit einer geringeren als 1%igen Häufigkeit, doch quantitativ nachweisbar, sind im Benthos folgende Bacillariophyceen zu finden :

<i>Amphora veneta</i>	<i>Eunotia praerupta</i>
<i>Anomoeoneis sphaerophora</i>	<i>Gomphonema constrictum</i>
<i>Cymbella cistula</i>	<i>Navicula Kotschy</i>
— <i>cymbiformis</i>	— <i>gracilis</i>
— <i>microcephala</i>	— <i>mutica</i> var. <i>nivalis</i>
— <i>prostata</i>	— <i>subtilissima</i>
— <i>ventricosa</i>	<i>Nitzschia microcephala</i>
<i>Diatoma vulgare</i> var. <i>producta</i>	<i>Synedra ulna</i> var. <i>oxyrhynchus</i>

Ganz sporadisch, nur in 1—2 Exemplaren kamen folgende Arten vor :

<i>Cocconeis placentula</i> var. <i>klinoraphis</i>	<i>Melosira varians</i>
— <i>disculus</i>	<i>Pinnularia microstauron</i>
<i>Cymbella sinuata</i>	— <i>microstauron</i> var. <i>Brébissonii</i>
<i>Denticula tenuis</i>	

Der Kieselalgenteppich auf dem Steinbänkchen des Quellbassins ist — an dieser Stelle mit langsam fliessendem Wasser — reich an Arten. Die Anzahl der qualitativ und quantitativ nachgewiesenen Arten und Varietäten der Kieselalgen beträgt 54. Davon kamen 19 mit einer 17—1,11%igen Häufigkeit vor. Obwohl der Anzahl der Individuen nach die *Achnanthes minutissima* am häufigsten vorkommt, bestimmt sie dennoch nicht den Charakter des Moosbewuchses. *Achnanthes minutissima* kommt mit einer Häufigkeit von 17% vor, neben ihr die *Cocconeis pediculus* nur mit einer 8%igen, *Cocconeis placentula* var. *euglypta* sogar nur mit einer 6%igen. Die Größenmasse der hier vorkommenden *Achnanthes* Art — sei es im Vergleich zu den ebenfalls vorhandenen *Cocconeis*-Individuen, sei es im Vergleich zur *Epithemia sorex* mit einer Häufigkeit von bloss 2,60% — sind verschwindend gering. Charakter und äussere Form des Kieselalgenteppichs in dem Überzug des Steinbänkchens werden demzufolge von den *Cocconeis* Arten bestimmt.

##### 5. Der Kieselalgenüberzug auf dem Steinbänkchen des Quellbassins — in schnell fliessendem Wasser

In dieser Quelle haftet die Bacillariophyceen-Decke in Form einer dünnen Rinde unmittelbar an dem Steinbänkchen. Andere Algen kommen in dem rinden-

artigen Überzug kaum vor. Wir geben anschliessend die quantitative Analyse der Bacillariophyceen :

<i>Achnanthes minutissima</i> .....	77,00%
— <i>lanceolata</i> .....	6,50%
<i>Cymbella affinis</i> .....	6,50%

Mit einer geringeren als 1%igen, zwischen 0,70—0,10% schwankenden Häufigkeit, kommen folgende Arten vor :

<i>Achnanthes hungarica</i>	
— <i>lanceolata</i> var. <i>elliptica</i>	
— <i>lanceolata</i> var. <i>rostrata</i>	
<i>Amphora ovalis</i>	
— <i>ovalis</i> var. <i>pediculus</i>	
— <i>perpusilla</i>	
<i>Cocconeis disculus</i>	
— <i>placentula</i>	
— <i>placentula</i> var. <i>klinoraphis</i>	
— <i>placentula</i> var. <i>lineata</i>	
<i>Cymbella cymbiformis</i>	
<i>Denticula tenuis</i> var. <i>crassula</i>	

<i>Fragilaria leptostauron</i> var. <i>dubia</i>	
<i>Gomphonema parvulum</i> var. <i>micropus</i>	
<i>Navicula dicephala</i>	
— <i>Reinhardtii</i>	
<i>Nitzschia communis</i>	
— <i>Kützingiana</i>	
— <i>microcephala</i>	
— <i>palea</i>	
<i>Synedra ulna</i>	
— <i>ulna</i> var. <i>oxyrhynchus</i>	
— <i>ulna</i> var. <i>spathulifera</i>	

Ganz sporadisch, nur in 1—2 Exemplaren kommen vor :

<i>Achnanthes microcephala</i>	
<i>Caloneis silicula</i> var. <i>truncatula</i>	
<i>Cymbella prostata</i>	
— <i>ventricosa</i>	
<i>Denticula tenuis</i>	

<i>Diatoma vulgare</i> var. <i>producta</i>	
<i>Gomphonema angustatum</i> var. <i>producta</i>	
<i>Navicula menisculus</i>	
<i>Nitzschia denticula</i>	
— <i>sinuata</i> var. <i>tabellaria</i>	

In der Algenschicht des Steinbänkchens mit schnell fliessendem Wasser ist *Achnanthes minutissima* mit einer 77%igen Häufigkeit vorherrschend. Mit bedeutender Häufigkeit folgen noch *Achnanthes lanceolata* und *Cymbella affinis*. Die Anzahl der quantitativ analysierten Arten und Varietäten der Kieselalgen beträgt 28. Von diesen nehmen jedoch nur 3 Bacillariophyceen mit einer mehr als 1%igen Häufigkeit an der Ausbildung des Benthos teil. 23 gleichfalls beteiligte Arten weisen eine Häufigkeit von weniger als 1% auf, während 10 Arten nur ganz sporadisch vorkommen. Der rindenartige Kieselalgenbewuchs des Steinbänkchens, an Stellen mit schnell fliessendem Wasser, wird also durch das massenhafte Vorkommen von einigen und durch das sporadische Vorkommen von vielen Arten charakterisiert.

#### 6. Der Kieselalgenüberzug an der Ausflussstelle des Quellbassins — im Felsenbett des rauschend fliessenden Wassers

Das in grosser Menge ausfliessende Wasser der Quelle verlässt wasserfallartig das Bassin. Das wogende Wasser bohrt sich in den Felsengrund ein kanalartiges Bett, das von verschiedenen Diatomeen rindenartig umgeben ist.

Diese Kieselalgen haften in der Form dünner Schichten an der Felsenfläche des Quellbettes. Es folgen anschliessend die Ergebnisse der quantitativen Analyse :

<i>Achnanthes minutissima</i> .....	99,00%
— <i>exilis</i> .....	1,00%

Sehr selten, nur in 1—2 Exemplaren sind folgende Arten zu finden :

<i>Amphora perpusilla</i>	<i>Meridion circulare</i>
<i>Cocconeis placentula</i> var. <i>euglypta</i>	<i>Nitzschia capitellata</i>
<i>Cymbella affinis</i>	

Die Diatomeenrinde des rauschend fliessenden Bettes bzw. Kanals der Mosó-Quelle wird von *Achnanthes minutissima* gebildet. Zwischen ihren Individuen erscheinen nur hie und da einige Exemplare von *Achnanthes exilis*. Die übrigen als sporadisch bezeichneten 5 Bacillariophyceen kommen in einer kaum wahrnehmbaren Anzahl vor. Die *Achnanthes minutissima* und ihre Varietät, die *Achnanthes cryptocephala*, sind lückenlos durch Übergangsformen verbunden.

## II. Die Bacillariophyceen der Teknős-Quelle

Die am höchsten entspringende Quelle des Quellgebiets wurde für die Zwecke der Wasserleitung von Pápa verwendet. In der Nähe der Quelle befindet sich auf dem mit Kalkfelsen bedeckten Gebiet noch eine andere, gleichfalls wasserreiche Quelle. Ihr Bassin ist 1,40 m lang und 0,50 m breit. Die Wassertiefe beträgt 0,40 m. Am 23. August 1937 wurde in der Quelle eine Wassertemperatur von 15° C gemessen. In den muschelartigen Ausbuchtungen des Quellbeckens gibt es auch geschütztere Stellen. Kleine Reste von Fadenalgen, zerdrückte und zermalzte Moosblätter usw. sammeln sich hier, von der Strömung hergerollt, langsam an (7). Die Wand des Quellbeckens ist ringsum von einem Moosteppich bedeckt (8). Ebenso ist auch der Quellgrund an den Aufbruchstellen des Wassers mit Moos bedeckt (9). — Die langsam fliessenden seichten, flachen Wasseradern des Quellausflusses (10) sowie der weiterfliessende gleichfalls seichte, doch bereits bachartige Teil (11) und vor allem der sehr, schnell fliessende Quellausfluss selbst (12) unterscheiden sich als Sammelstellen mit verschiedenem ökologischem Charakter und sind deshalb für vergleichende Analysen sehr geeignet.

### 7. Die Diatomeen des Detritus und der Fadenalgen des Quellbeckens — an den vor der Strömung geschützteren Stellen

Wir geben vor allem die quantitative Analyse des Benthos :

<i>Fragilaria pinnata</i> .....	35,00%
<i>Fragilaria intermedia</i> .....	10,00%
<i>Achnanthes lanceolata</i> var. <i>rostrata</i> .....	6,28%
<i>Synedra ulna</i> var. <i>oxyrhynchus</i> .....	5,28%

<i>Achnanthes lanceolata</i> var. <i>elliptica</i> .....	4,00%
<i>Fragilaria pinnata</i> var. <i>lancettula</i> .....	4,00%
<i>Fragilaria brevistriata</i> .....	3,57%
<i>Gomphonema constrictum</i> var. <i>capitata</i> .....	3,57%
<i>Cocconeis placentula</i> var. <i>euglypta</i> .....	3,00%
<i>Cocconeis diminuta</i> .....	2,57%
<i>Cymbella ventricosa</i> .....	2,00%
<i>Navicula cryptocephala</i> .....	2,00%
<i>Cocconeis placentula</i> .....	1,85%
<i>Navicula gracilis</i> .....	1,70%
<i>Amphora ovalis</i> var. <i>pediculus</i> .....	1,57%
<i>Caloneis silicula</i> var. <i>truncatula</i> .....	1,42%
<i>Achnanthes lanceolata</i> .....	1,28%
<i>Synedra ulna</i> .....	1,28%
<i>Cymbella cistula</i> .....	1,24%
<i>Epithemia sorex</i> .....	1,00%
<i>Gomphonema olivaceum</i> .....	1,00%

Benthosglieder mit einer geringeren als 1%igen Häufigkeit :

<i>Achnanthes affinis</i>	<i>Epithemia turgida</i>
— <i>exilis</i>	— <i>zebra</i>
<i>Amphipleura pellucida</i>	<i>Gomphonema parvulum</i> var. <i>micropus</i>
<i>Cocconeis placentula</i> var. <i>lineata</i>	<i>Meridion circulare</i>
<i>Cymbella affinis</i>	<i>Navicula radiosa</i>
— <i>prostata</i>	— <i>rhynchocephala</i>

Ganz sporadisch kommen vor :

<i>Achnanthes Clevei</i>	<i>Hantzschia amphioxys</i>
— <i>Clevei</i> var. <i>rostrata</i>	<i>Navicula anglica</i>
— <i>minutissima</i> var. <i>cryptocephala</i>	— <i>minuscula</i>
<i>Caloneis lepidula</i>	— <i>mutica</i> var. <i>Cohnii</i>
<i>Cocconeis placentula</i> var. <i>klinoraphis</i>	— <i>simplex</i>
<i>Denticula tenuis</i>	<i>Nitzschia amphibia</i>
<i>Epithemia intermedia</i>	— <i>capitellata</i>
— <i>Muelleri</i>	— <i>denticula</i> var. <i>Delognei</i>
<i>Gomphonema acuminatum</i>	— <i>dissipata</i>
— <i>constrictum</i>	— <i>fonticola</i>
— <i>parvulum</i>	— <i>linearis</i>
<i>Frustulia vulgaris</i>	

In den Winkeln des Quellbassins mit felsigem Grund zeigt das Wasser gleichfalls fast gar keine Strömung. Die Detrituskörnchen in den geschützten Winkeln, die abgefallenen, zermalmt kleinen Moosblätter, die Reste der Fadenalgen sichern hier das massenhafte Vorkommen von *Fragilaria pinnata* und *Fragilaria intermedia* ( $35 + 10 = 45\%$ !). Die Häufigkeit der nächstfolgenden *Achnanthes lanceolata* var. *rostrata* beträgt 6,28%, die von *Synedra ulna* var. *oxyrhynchus* nur mehr 5,28%. Alle diese Arten und Varietäten bilden mehr als die Hälfte (56,40%) des Benthos. Die Häufigkeit der übrigen Diatomeen schwankt bei 17 Arten und Varietäten zwischen 4—1%, während sie bei 12 unter 1% sinkt. Sporadisch konnten 23 beobachtet werden.

An den vor der Strömung besser geschützten Stellen des Bassins kamen zwischen den Fadenalgen, im Detritus, insgesamt 56 verschiedene Bacillariophyceen vor.

### 8. Die Bacillariophyceen im Moosrasenüberzug auf den Seitenwänden des Quellbassins — in strömendem Wasser

Die Proben wurden aus dem hinteren seitlichen Teil des Quellbassins genommen. Das Wasser zeigt hier eine gleichmässige, langsame Bewegung. Die Moosdecke der Felsenwand ist mit Epiphyten-Diatomeen überzogen. Der Überzug ist dünn und zeigt eine dunkelbraune Farbe. Wir geben die quantitative Analyse des Benthos :

<i>Achnanthes minutissima</i> .....	25,00%
<i>Amphora perpusilla</i> .....	23,50%
— <i>ovalis</i> var. <i>pediculus</i> .....	18,25%
<i>Cocconeis placentula</i> .....	5,75%
— <i>placentula</i> var. <i>euglypta</i> .....	4,75%
<i>Achnanthes exilis</i> .....	3,75%
<i>Amphora veneta</i> .....	3,25%
<i>Achnanthes linearis</i> .....	2,50%
— <i>lanceolata</i> .....	2,25%
— <i>minutissima</i> var. <i>cryptocephala</i> .....	2,00%
— <i>microcephala</i> .....	1,50%
<i>Synedra ulna</i> .....	1,25%
<i>Achnanthes affinis</i> .....	1,00%

An der Ausbildung des Moosrasenüberzugs sind folgende Bacillariophyceen mit einer geringeren als 1%igen Häufigkeit, doch quantitativ noch nachweisbar, beteiligt :

<i>Achnanthes lanceolata</i> var. <i>elliptica</i>
<i>Caloneis bacillum</i>
<i>Cocconeis diminuta</i>
— <i>placentula</i> var. <i>klinoraphis</i>
— <i>placentula</i> var. <i>lineata</i>

<i>Cymbella affinis</i>
<i>Gomphonema parvulum</i>
— <i>parvulum</i> var. <i>micropus</i>
<i>Meridion circulare</i>
<i>Synedra ulna</i> var. <i>oxyrhynchus</i>

Nur sporadisch, in 1—2 Exemplaren sind anzutreffen :

<i>Epithemia turgida</i> var. <i>granulata</i>
<i>Gomphonema intricatum</i>
<i>Navicula cuspidata</i>

<i>Nitzschia amphibia</i>
<i>Synedra biceps</i>

Aus der quantitativen Analyse geht hervor, dass *Amphora perpusilla* und *Amphora ovalis* var. *pediculus* zusammen 41,75% des Moosrasenüberzugs bilden. Da *Achnanthes minutissima* mit einer Häufigkeit von 25% vertreten ist, besteht das Benthos zu 66,75% aus den angeführten drei Arten bzw. Varietäten. Die Anzahl der quantitativ analysierten Arten und Varietäten beträgt 13, die der gesondert untersuchten, mit einer geringeren als 1%igen Häufigkeit 10, die der sporadischen 5. In dem Benthos auf dem Grund des Quellbassins, an den Rändern der Wasseraufbruchstellen, kommen also insgesamt 28 Arten und Varietäten der Bacillariophyceen vor.

### 9. Die Bacillariophyceen in dem den Grund des Quellbeckens bedeckenden Moosrasenüberzug — in strömendem Wasser

Aus den Felsenspalten im Becken der Teknős-Quelle bricht das Wasser rauschend empor. An den Ausbruchrändern der Karstquelle ist der felsige Grund mit Moospolstern bedeckt. Diese werden von ständig fliessendem frischem Wasser übergossen. Wir geben die quantitative Analyse des Bacillariophyceen-Überzugs :

<i>Achnanthes minutissima</i> .....	86,60%
— <i>minutissima</i> var. <i>cryptocephala</i> .....	3,00%
<i>Amphora perpusilla</i> .....	3,00%
<i>Meridion circulare</i> .....	1,50%

Mit einer geringeren als 1%igen Häufigkeit kommen vor :

<i>Achnanthes exilis</i>	<i>Gomphonema parvulum</i> var. <i>micropus</i>
<i>Amphora veneta</i>	<i>Nitzschia fonticola</i>
<i>Cocconeis placentula</i>	— <i>Kützingiana</i>
— <i>placentula</i> var. <i>euglypta</i>	— <i>romana</i>
<i>Cyclotella Meneghiniana</i>	<i>Synedra ulna</i>
<i>Gomphonema angustatum</i>	— <i>ulna</i> var. <i>oxyrhynchus</i>

Nur in 1—2 Exemplaren kommen vor :

<i>Cocconeis disculus</i>	<i>Fragilaria pinnata</i>
<i>Denticula tenuis</i>	— <i>leptostauron</i> var. <i>dubia</i>
<i>Diploneis puella</i>	<i>Navicula cryptocephala</i>
<i>Epithemia sorex</i>	<i>Nitzschia capitellata</i>
— <i>turgida</i>	

Auf dem felsigen Grund des Quellbassins wird der grösste Teil des dunkelbraunen, weich anzufühlenden dichten Moosrasenüberzugs von der *Achnanthes minutissima* und ihrer Varietät, der *Achnanthes minutissima* var. *cryptocephala* gebildet. Das Benthos besteht zu 89,60% aus diesen beiden. Die zunächst folgende *Amphora perpusilla* zeigt eine Häufigkeit von 3%, die *Meridion circulare* nur eine von 1,50%. Die Anzahl der übrigen, quantitativ noch bestimmten Bacillariophyceen beträgt 12, doch kommt keine von ihnen mit einer 1% überschreitenden Häufigkeit vor. Neun Arten und Varietäten konnten nur sporadisch festgestellt werden (Insgesamt also  $4 + 12 + 9 = 25$ ).

### 10. Die Kieselalgen am Uferrand der Wasserader — in ruhig fliessendem Wasser

Die felsigen Uferränder der zum Bach erweiterten, aber noch immer schnell fliessenden Wasseradern sind mit dunkelbraun getönten Diatomeenstreifen bedeckt. Da sich diese Streifen nur am äussersten Uferrand entlang ziehen, ist ihre Oberfläche bloss von einer einige mm tiefen strömend-flutenden Wasserschicht begossen. Die schmalen Streifen sind von Fadenalgen durchzogen. Wir geben die quantitative Analyse des Benthos :

<i>Cyclotella Meneghiniana</i> .....	40,00%
<i>Achnanthes minutissima</i> .....	19,00%
<i>Meridion circulare</i> .....	17,00%
<i>Achnanthes minutissima</i> var. <i>cryptocephala</i> .....	6,00%
<i>Gomphonema parvulum</i> var. <i>micropus</i> .....	5,33%
<i>Nitzschia fonticola</i> .....	1,66%
<i>Cymbella affinis</i> .....	1,33%
<i>Cocconeis diminuta</i> .....	1,33%
<i>Denticula tenuis</i> .....	1,33%
<i>Synedra ulna</i> .....	1,33%
<i>Achnanthes exilis</i> .....	1,00%
<i>Cocconeis placentula</i> var. <i>euglypta</i> .....	1,00%
<i>Nitzschia Kützingiana</i> .....	1,00%

An der Ausbildung des Kieselalgenteppichs sind mit einer geringeren als 1%igen Häufigkeit beteiligt :

*Achnanthes lanceolata*  
— *lanceolata* var. *elliptica*

*Gomphonema parvulum*  
*Nitzschia romana*

Sporadisch kamen vor :

*Amphora ovalis* var. *pediculus*  
— *perpusilla*

*Amphora veneta*  
*Fragilaria pinnata*

Es erscheint uns erwähnenswert, dass die mit ihrem massenhaften Vorkommen für das Plankton charakteristische *Cyclotella Meneghiniana* hier, am felsigen Uferstreifen, mit einer 40%igen Häufigkeit vorkam. Die Uferstreifen der kleinen Quellader sind weder mit Sand noch mit Schlamm bedeckt. Im Gegensatz zu dem typischen Planktonglied, ist die gleichzeitig mit einer Häufigkeit von 17% vorkommende *Meridion circulare*, ein allgemein bekanntes, bezeichnendes Glied im Benthos der Quellen und Bäche.

Die Anzahl der hier vorkommenden, quantitativ analysierten Bacillariophyceen beträgt 13. Ausserdem kommen noch 4 mit einer geringeren als 1%igen Häufigkeit vor, ebenso gross ist die Anzahl der sporadisch vorkommenden Exemplare. An der Ausbildung des Benthos sind also 21 Arten und Varietäten der Bacillariophyceen beteiligt.

### 11. Die Kieselalgen im bachartigen Teil der Teknös-Quelle — in schnell fliessendem Wasser

Die rauschend hervorbrechende Wassermenge des Quellbassins setzt, bachartig erweitert, ihren Weg fort. Das Wasser ist bloss einige cm tief. Das Bett des Quellbaches ist kieselig-felsig. Diese Kieselsteine und kleinen Felsblöcke sind mit einem Diatomeenteppich bedeckt, der eine hellbraune-dunkelgelbe Farbe zeigt und sich weich seidenartig anfühlt. Die quantitative Benthos-Analyse lautet :

<i>Meridion circulare</i> .....	20,33%
<i>Achnanthes minutissima</i> .....	12,00%
<i>Cyclotella Meneghiniana</i> .....	9,00%
<i>Cocconeis placentula</i> var. <i>euglypta</i> .....	7,33%

<i>Fragilaria leptostauron</i> var. <i>rhomboides</i> .....	6,66%
<i>Amphora perpusilla</i> .....	5,66%
<i>Fragilaria intermedia</i> .....	4,33%
<i>Achnanthes lanceolata</i> .....	3,33%
— <i>microcephala</i> .....	3,33%
— <i>lanceolata</i> var. <i>elliptica</i> .....	3,00%
— <i>minutissima</i> var. <i>cryptocephala</i> .....	3,00%
<i>Denticula tenuis</i> .....	3,00%
<i>Gomphonema parvulum</i> var. <i>micropus</i> .....	3,00%
<i>Eunotia praerupta</i> .....	2,66%
<i>Synedra ulna</i> .....	2,66%
<i>Cymbella affinis</i> .....	2,33%
<i>Nitzschia fonticola</i> .....	1,32%
<i>Achnanthes Clevei</i> .....	1,00%
<i>Cocconeis diminuta</i> .....	1,00%
<i>Cymbella sinuata</i> .....	1,00%
<i>Gomphonema parvulum</i> .....	1,00%

Mit einer geringeren als 1%igen Häufigkeit, doch quantitativ nachweisbar, kommen folgende Exemplare vor :

<i>Gomphonema angustatum</i>	<i>Navicula mutica</i> var. <i>Cohnii</i>
— <i>constrictum</i>	<i>Nitzschia fonticola</i>

Nur sporadisch, in ganz wenigen Exemplaren sind zu finden :

<i>Amphora Normani</i>	<i>Epithemia turgida</i> var. <i>granulata</i>
— <i>veneta</i>	<i>Gomphonema olivaceum</i>
<i>Caloneis alpestris</i>	<i>Nitzschia capitata</i>
<i>Cocconeis placentula</i>	

Die Anzahl der quantitativ analysierten Arten beträgt 25, die der sporadisch vorkommenden 7, insgesamt also 32. Die Steine im Bett des schnell fliessenden Quellbaches sind vorherrschend mit den Individuen von *Meridion circulare* bedeckt, der — in bezug auf die Häufigkeit — *Achnanthes minutissima*, *Cyclotella Meneghiniana* sowie *Cocconeis placentula* var. *euglypta* folgen. Diese Bacillariophyceen bilden 54,66% des Benthos.

## 12. Der Diatomeenüberzug an der Ausflussstelle der Teknős-Quelle — in rauschend fliessendem Wasser

Aus dem wasserreichen Quellbassin fliessst das Wasser nur auf einem engen Gebiet ab. Das rauschende Wasser bahnte sich im Laufe langer Zeit ein kleines Bett, das auch in den Teilen, wo das Wasser am schnellsten fliessst, mit einer aus Diatomeen bestehenden Rinde bedeckt ist. Die Rinde ist 1—2 mm dick, an mehreren Stellen jedoch ein ganz dünnes, kaum abkratzbares Häutchen. Die Schicht zeigt eine dunkelbraune Farbe, fühlt sich glatt, aber nicht samtartig an. Die quantitative Benthos-Analyse lautet :

<i>Achnanthes minutissima</i> .....	67,00%
<i>Cymbella affinis</i> .....	14,00%
<i>Achnanthes exilis</i> .....	10,20%
— <i>Clevei</i> .....	2,70%
— <i>microcephala</i> .....	1,50%

<i>Fragilaria pinnata</i> .....	1,50%
<i>Amphora perpusilla</i> .....	1,20%
<i>Denticula tenuis</i> .....	1,20%

Ganz selten, nur in 1—2 Exemplaren, sind anzutreffen :

<i>Achnanthes lanceolata</i>	<i>Cocconeis placentula</i> var. <i>euglypta</i>
— <i>linearis</i>	<i>Cyclotella Meneghiniana</i>
<i>Cocconeis diminuta</i>	<i>Diplothele ovalis</i> var. <i>oblongella</i>
— <i>disculus</i>	<i>Navicula pupula</i> var. <i>rectangularis</i>
— <i>placentula</i>	<i>Nitzschia dissipata</i>

Die Anzahl der quantitativ analysierten Arten und Varietäten beträgt 8, die der sporadisch vorkommenden 10. Insgesamt kommen also 18 verschiedene Bacillariophyceen in dem Felsenbett mit rauschend-fliessendem Wasser vor. Auch an der Ausflussstelle dieser Quelle ist, genau so wie bei der vorher besprochenen Mosó-Quelle, *Achnanthes minutissima* vorherrschend. Die Achnanthes-Arten bilden 81,40% der Benthos-Individuen.

In dem Felsenbett mit schnell strömendem Wasser tritt die Geschwindigkeit desselben als ein wichtiger, Arten selektierender und verteilender Faktor in Erscheinung. Das Benthos auf diesem Gebiet mit schnell fliessendem Wasser wird durch wenige Arten und viele Individuen charakterisiert. Die in der Liste der sporadisch vorkommenden Arten angeführten Bacillariophyceen konnten nur nach Abzählung von nahezu 1000 Individuen festgestellt werden, sind also tatsächlich sporadische Exemplare. Die im Felsenbett quantitativ nachgewiesenen Kieselalgen gehören im allgemeinen zu den den Körpermassen nach kleineren Algen. Der erwähnte, ganz dünne, hautartige Überzug wurde ausschliesslich von Bacillariophyceen gebildet.

### III. Die Bacillariophyceen der »Kibugyanó-Quelle«

Auf dem Quellgebiet von Tapolcafő bricht das Wasser an mehr als 25 Stellen an die Oberfläche hervor. Die Stellen, wo das Wasser hervorbricht, sind der Form nach sehr verschieden. Eine bezeichnende Quelle des Gebiets ist die, die mit dem Namen Kibugyanó-Quelle bezeichnet wurde. Hier fällt das Wasser als kleiner Wasserfall in das untere Bassin, das seinerseits wieder eigene untere Aufbruchstellen hat. Die senkrechte Felsenwand der »Kibugyanó-Quelle« ist 70 cm hoch und das Wasser rauscht in einer Breite von 12 cm über die Wand in das untere Bassin herab. In den versteckteren Winkeln des Bassins befindet sich zerdrückt zermalmter Algenabfall (13). An das Quellbassin schliessen sich kleine Buchten mit stehendem Wasser und schlammigem Grund (14). An den ruhigeren Stellen ist die Felsenwand des Bassins mit Fadenalgen bedeckt (15). An den Stellen mit schnell fliessendem Wasser sind die Steine des Bassins mit einem frischgrünen Moosteppich überzogen (16). Das Bett der schnell fliessenden Wasseradern ist mit dunkelbraunem Diatomeenteppich (17) bedeckt.

Unterhalb der rauschenden Ausflussstelle der Quelle haften dunkelbraune Kieselalgen-Häutchen an der Felsenfläche (18).

13. Die Bacillariophyceen an den Fadenalgen des Quellbassins  
— in ruhigem, langsam fliessendem Wasser

An den geschützten, inneren Stellen des Bassins zeigt das Wasser eine kaum nennenswerte Bewegung. In diesen Winkeln, Vertiefungen mit fast stehendem Wasser, häufte sich zerdrückt zermalmter Algenabfall an. Im Detritus befinden sich neben den Resten der Fadenalgen auch viele kleine Moosblätter. Es folgen anschliessend die Angaben der quantitativen Analyse der Bacillario-phyceen :

<i>Achnanthes minutissima</i> .....	15,25%
<i>Gomphonema parvulum</i> .....	9,50%
<i>Nitzschia amphibia</i> .....	7,75%
<i>Achnanthes lanceolata</i> .....	7,00%
— <i>lanceolata</i> var. <i>elliptica</i> .....	4,75%
<i>Fragilaria pinnata</i> var. <i>lancettula</i> .....	4,00%
<i>Amphora perpusilla</i> .....	3,50%
<i>Synedra ulna</i> .....	3,50%
<i>Gomphonema olivaceum</i> var. <i>calcarea</i> .....	2,75%
<i>Navicula cryptocephala</i> var. <i>intermedia</i> .....	2,75%
<i>Fragilaria leptostauron</i> var. <i>dubia</i> .....	2,50%
— <i>brevistriata</i> .....	2,25%
<i>Gomphonema angustatum</i> .....	2,25%
<i>Nitzschia thermalis</i> var. <i>minor</i> .....	2,25%
<i>Achnanthes lanceolata</i> var. <i>rostrata</i> .....	2,00%
<i>Cocconeis placentula</i> var. <i>euglypta</i> .....	2,00%
<i>Navicula rhynchocephala</i> .....	2,00%
<i>Achnanthes microcephala</i> .....	1,50%
<i>Amphora ovalis</i> var. <i>pediculus</i> .....	1,25%
<i>Cymbella cymbiformis</i> .....	1,25%
<i>Nitzschia linearis</i> .....	1,25%
<i>Cymbella cistula</i> .....	1,00%
<i>Gomphonema constrictum</i> .....	1,00%
<i>Navicula menisculus</i> .....	1,00%
— <i>Reinhardtii</i> .....	1,00%

Mit einer geringeren als 1%igen Häufigkeit kommen folgende Exemplare vor :

<i>Achnanthes Clevei</i>	<i>Gomphonema longiceps</i>
— <i>exilis</i>	<i>Meridion circulare</i>
— <i>lanceolata</i> var. <i>capitata</i>	<i>Navicula Kotschyi</i>
— <i>linearis</i>	— <i>minuscula</i>
<i>Amphora ovalis</i>	— <i>mutica</i> var. <i>nivalis</i>
<i>Anomoeoneis sphaerophora</i>	— <i>placentula</i>
<i>Caloneis bacillum</i>	— <i>pupula</i> var. <i>elliptica</i>
— <i>silicula</i> var. <i>truncatula</i>	— <i>pupula</i> var. <i>rectangularis</i>
<i>Cocconeis placentula</i>	<i>Navicula radiosha</i>
— <i>placentula</i> var. <i>klinoraphis</i>	— <i>simplex</i>
<i>Cyclotella Meneghiniana</i>	<i>Nitzschia communis</i>
<i>Cymbella sinuata</i>	— <i>dissipata</i>
— <i>ventricosa</i>	— <i>sinuata</i> var. <i>tabellaria</i>
<i>Diploneis puella</i>	<i>Stauroneis Smithii</i>
<i>Epithemia sorex</i>	<i>Synedra ulna</i>
<i>Fragilaria brevistriata</i> var. <i>inflata</i>	— <i>ulna</i> var. <i>oxyrhynchus</i>
<i>Frustulia vulgaris</i>	

Ganz sporadisch waren zu finden :

<i>Achnantes exigua</i> var. <i>heterovalvata</i>	<i>Navicula bacillum</i>
<i>Caloneis silicula</i> var. <i>gibberula</i>	— <i>pupula</i> var. <i>capitata</i>
<i>Cocconeis placentula</i> var. <i>lineata</i>	<i>Nitzschia fonticola</i>
<i>Cymbella microcephala</i>	<i>Synedra ulna</i> var. <i>spathulifera</i>

Im inneren Teil der Bucht mit stehendem Wasser ist — an den Stellen mit Fadenalgen — die grosse Anzahl der Arten für die Bacillariophyceen charakteristisch. Hier sind nämlich 66 Arten und Varietäten der Bacillariophyceen an der Ausbildung des Benthos beteiligt. Der quantitativen Verteilung nach konnte in 25 Fällen eine mehr als 1%ige Häufigkeit festgestellt werden. Eine quantitativ noch nachweisbare Häufigkeit unter 1% wurde in 33 Fällen beobachtet. Ganz sporadisch kamen 8 Bacillariophyceen vor.

#### 14. Die Kieselalgen der kleinen Buchten mit schlammigem Grund — in völlig stehendem Wasser

Die kleinen Buchten werden von den aus dem Bassin ausgehenden Wasseradern mit Wasser versorgt. Diese kleinen Buchten bilden fast völlig stehende Gewässer und haben keinen Abfluss. Das überflüssige Wasser verlässt im Sickerungswege die kleinen kaum 1—2 cm tiefen Miniaturwasserbecken. Der Grund dieser felsigen kleinen Vertiefungen ist mit Schlamm bedeckt, in dem viele Algen- und Moosreste enthalten sind. Wir geben die quantitative Analyse des Benthos :

<i>Fragilaria pinnata</i> .....	20,36%
<i>Achnanthes minutissima</i> .....	8,66%
<i>Gomphonema angustatum</i> .....	7,00%
<i>Navicula dicephala</i> .....	5,36%
<i>Achnanthes lanceolata</i> .....	5,00%
<i>Navicula anglica</i> .....	4,33%
<i>Nitzschia amphibia</i> .....	4,33%
<i>Fragilaria pinnata</i> var. <i>lancettula</i> .....	3,33%
<i>Achnanthes lanceolata</i> var. <i>rostrata</i> .....	3,00%
<i>Navicula cryptocephala</i> .....	3,00%
<i>Nitzschia denticula</i> .....	3,00%
<i>Nitzschia linearis</i> .....	2,66%
<i>Cymbella microcephala</i> .....	2,36%
<i>Gomphonema parvulum</i> var. <i>micropus</i> .....	2,36%
<i>Amphora ovalis</i> var. <i>pediculus</i> .....	2,00%
<i>Amphora perpusilla</i> .....	2,00%
<i>Fragilaria leptostauron</i> .....	1,66%
<i>Achnanthes microcephala</i> .....	1,33%
<i>Denticula tenuis</i> var. <i>crassula</i> .....	1,33%
<i>Fragilaria intermedia</i> .....	1,33%

Mit einer 1%igen Häufigkeit kommen vor :

<i>Anomoeoneis sphærophora</i>	<i>Navicula pupula</i> var. <i>elliptica</i>
<i>Cocconeis placentula</i>	— <i>pupula</i> var. <i>rectangularis</i>
— <i>placentula</i> var. <i>euglypta</i>	— <i>simplex</i>
<i>Cyclotella Meneghiniana</i>	<i>Pinnularia microstauron</i> var. <i>Brébissonii</i>
<i>Epithemia sorex</i>	

Mit einer geringeren als 1%igen Häufigkeit sind zu finden :

<i>Achnanthes exilis</i>	<i>Cymbella affinis</i>
— <i>hungarica</i>	— <i>prostata</i>
<i>Amphora ovalis</i>	— <i>ventricosa</i>
<i>Caloneis bacillum</i>	<i>Pinnularia microstauron</i>
— <i>bacillum</i> var. <i>lanceitula</i>	<i>Stauroneis Smithii</i>
<i>Cymatopleura solea</i>	<i>Synedra ulna</i>

Nur in 1—2 Exemplaren sind zu finden :

<i>Fragilaria brevistriata</i>	<i>Navicula Rotaean</i>
<i>Gomphonema lanceolatum</i> var. <i>insignis</i>	— <i>similis</i>
<i>Navicula exigua</i>	<i>Neidium iridis</i> f. <i>vernalis</i>
— <i>falaiensi</i>	<i>Nitzschia capitellata</i>
— <i>falaiensis</i> var. <i>lanceola</i>	— <i>recta</i>
— <i>gracilis</i>	— <i>sublinearis</i>
— <i>laterostrata</i>	— <i>tryblionella</i> var. <i>debilis</i>
— <i>placentula</i> f. <i>rostrata</i>	<i>Stauroneis anceps</i> f. <i>linearis</i>
— <i>pupula</i> var. <i>capitata</i>	

Die zur »Kibugyanó-Quelle« gehörenden kleinen Bassins mit Detritus, stehendem Wasser und schlammigem Grund werden durch viele Arten und wenige Individuen charakterisiert. Im Detritus kommt *Fragilaria pinnata* am häufigsten vor und bildet 20,36% des Benthos. Der Häufigkeit nach folgen *Achnanthes minutissima*, *Gomphonema angustatum* und *Navicula dicephala*. Diese ergeben zusammen nahezu 42% des Benthos. Die übrigen quantitativ bestimmten Arten und Varietäten kommen nur mit einer Häufigkeit unter 5% vor. Im Endresultat kann festgestellt werden, dass die Häufigkeit bei 20 Arten und Varietäten der Bacillariophyceen 1% überschreitet, während sie bei 9 gerade 1% erreicht. In 12 Fällen bewegt sich die quantitativ noch nachweisbare Häufigkeit unter 1%. Ausserdem sind 17 Bacillariophyceen sporadisch anzutreffen. Insgesamt sind 58 Arten und Varietäten festzustellen. — Das Quellbassin hat einen schlammigen Grund, der Teil mit ruhig stehendem Wasser ist sehr reich an Arten.

### 15. Die Bacillariophyceen auf den Fadenalgen des Bassins — in ruhig strömendem Wasser

Zuerst geben wir die qualitative Analyse des Benthos :

<i>Achnanthes minutissima</i> .....	33,00%
— <i>exilis</i> .....	25,00%
<i>Meridion circulare</i> .....	10,00%
<i>Gomphonema parvulum</i> var. <i>micropus</i> .....	8,33%
<i>Nitzschia fonticola</i> .....	6,66%
<i>Cyclotella Meneghiniana</i> .....	6,00%
<i>Nitzschia dissipata</i> .....	5,00%
<i>Achnanthes lanceolata</i> var. <i>elliptica</i> .....	3,00%
<i>Synedra ulna</i> .....	2,00%
— <i>ulna</i> var. <i>oxyrhynchus</i> .....	1,00%

## Sporadisch vorkommende Arten :

<i>Achnanthes Clevei</i>	<i>Navicula pupula</i> var. <i>elliptica</i>
<i>Amphora perpusilla</i>	<i>Nitzschia Kützingiana</i>
<i>Gomphonema angustatum</i>	— <i>palea</i>
<i>Navicula pupula</i>	<i>Rhopalodia gibba</i> var. <i>ventricosa</i>

Die Anzahl der quantitativ analysierten Bacillariophyceen beträgt 10, die der nur sporadisch vorkommenden 8. Der Benthos wird zu 68% von den Individuen der *Achnanthes minutissima*, *Achnanthes exilis* und *Meridion circulare* gebildet. Die Häufigkeit der übrigen Bacillariophyceen schwankt zwischen 8—1%.

16. *Der Moosrasenüberzug in der felsigen Bucht des Quellbassins*  
— in schnell fliessendem Wasser

Die Bassinwand ist zur Gänze mit einem grünen Moosteppich, die Moose hingegen mit dunkelbraunen Kieselalgen bedeckt. Die untersuchten Benthosproben stammen aus dem äusseren Teil des Bassins mit schnell fliessendem Wasser. Die Strömung des nach aussen fliessenden Wassers kommt hier schon stärker zur Geltung. Wir geben die quantitative Benthos-Analyse :

<i>Achnanthes minutissima</i> .....	64,75%
<i>Cocconeis placentula</i> var. <i>euglypta</i> .....	9,50%
<i>Meridion circulare</i> .....	6,25%
<i>Amphora perpusilla</i> .....	3,75%
<i>Diatoma vulgare</i> var. <i>producta</i> .....	3,00%
<i>Cocconeis placentula</i> .....	2,25%
<i>Epithemia turgida</i> .....	1,50%
— <i>sorex</i> .....	1,25%
<i>Nitzschia fonticola</i> .....	1,25%
<i>Cymbella affinis</i> .....	1,00%
<i>Fragilaria pinnata</i> .....	1,00%
<i>Synedra ulna</i> var. <i>oxyrhynchus</i> .....	1,00%

Mit einer geringeren als 1%igen Häufigkeit kommen folgende Exemplare vor :

<i>Caloneis bacillum</i>	<i>Epithemia zebra</i>
<i>Eunotia praerupta</i>	

## Sporadisch kommen vor :

<i>Achnanthes Clevei</i>	<i>Gomphonema angustatum</i>
— <i>hungarica</i>	— <i>constrictum</i>
— <i>lanceolata</i> var. <i>elliptica</i>	— <i>parvulum</i> var. <i>micropus</i>
— <i>lanceolata</i> var. <i>rostrata</i>	<i>Navicula placentula</i> f. <i>jenisseensis</i>
<i>Amphora ovalis</i> var. <i>pediculus</i>	— <i>Reinhardtii</i>
<i>Fragilaria brevistriata</i>	<i>Nitzschia sinuata</i> var. <i>tabellaria</i>
— <i>intermedia</i>	<i>Pinnularia microstauron</i>
<i>Gomphonema acuminatum</i>	

Die Anzahl der quantitativ untersuchten Arten und Varietäten der Bacillariophyceen beträgt 15, die der qualitativ analysierten 15. Insgesamt kom-

men also an dieser Stelle — mit ziemlich schnell fliessendem Wasser — im Moosteppich des Quellbassins 30 verschiedene Bacillariophyceen vor. Obwohl der grösste Teil des Benthos von den winzig kleinen Individuen der *Achnanthes minutissima* gebildet wird, sind es die Individuen der *Cocconeis* und der *Meridion* die — schon infolge ihrer grossen Masse — dem Benthos das charakteristische Gepräge geben.

### 17. Die Bacillariophyceen auf dem Felsbänkchen des Quellbassins — in schnell strömendem Wasser

Der grösste Teil des aus dem Bassin fliessenden Quellwassers strömt über eine flache Felsenfläche hinweg, die mit einer 1—2 mm dünnen, gelblich-braunen Diatomeenrinde bedeckt ist. Auch das mikroskopische Bild des Benthos lässt das massenhafte Vorkommen von Bacillariophyceen erkennen. Der Moosüberzug ist weich, glatt, fühlt sich seidenartig an und bildet eine zusammenhängende Decke. Wir geben die quantitative Analyse :

*Achnanthes minutissima* ..... 99,00%

Mit einer geringeren als 1%igen Häufigkeit kamen noch folgende Exemplare vor :

*Amphora perpusilla*  
*Cymbella affinis*  
*Gomphonema angustatum*

*Meridion circulare*  
*Nitzschia capitellata*  
— *denticula*

Sporadisch waren anzutreffen :

*Cyclotella Meneghiniana*  
*Diatoma vulgare* var. *producta*

*Synedra ulna*

Die einheitliche Diatomeenrinde wird also fast ausschliesslich von den kleinwinzigen Individuen der *Achnanthes minutissima* gebildet. Die Anzahl der Arten und Varietäten, die mit einer Häufigkeit unter 1% vorkommen, beträgt 6, die der sporadischen 3. Insgesamt also 10 Arten und Varietäten. Charakteristisch für den Benthos sind die wenigen Arten und vielen Individuen.

### 18. Die Diatomeen an der Ausflussstelle des Quellbassins — im Felsenbett der Schnellen

Im Felsenbett des Quellbassins mit rauschend strömendem Wasser haftet ein kaum 1 mm dicker hautartiger Überzug an der Oberfläche. Die Benthos-Schicht ist so eng mit dem Grund verbunden, dass sie von diesem kaum abtrennbar ist. Die Benthos-Schicht ist dunkelbraun, fast schwarz und wird, wie auch aus der quantitativen Analyse hervorgeht, von einer einzigen Bacillariophyceen-Art gebildet :

*Achnanthes minutissima* ..... 100,00 %

Nur ganz vereinzelt waren im Benthos zu finden:

*Achnanthes exilis*

— *lanceolata*

*Amphora ovalis* var. *pediculus*

*Cymbella affinis*

*Fragilaria pinnata*

— *pinnata* var. *lancettula*

*Gomphonema angustatum*

*Navicula cryptocephala*

— *gracilis*

— *Kotschyi*

*Nitzschia denticula*

Ausdrücklich ist hervorzuheben, dass obige sporadische 11 Arten nur nach Durchprüfung von mehreren Tausend *Achnanthes*-Individuen findbar waren.

**Die Verbreitung der Bacillariophyceen des Quellgebiets von Tapolcafő innerhalb der einzelnen Quellen und auf deren, vom ökologischen Standpunkt verschiedenen Gebieten**

1. *Melosira varians* C. A. AG. kommt im Benthos auf dem Steinbänkchen der »Mosó-Quelle«, in langsam fliessendem Wasser vereinzelt vor (Tafel I/24).
2. *Cyclotella Meneghiniana* KÜTZ. kommt im Moosrasenüberzug auf dem felsigen Grund der »Mosó-Quelle« sowie an den vor der Strömung geschützten

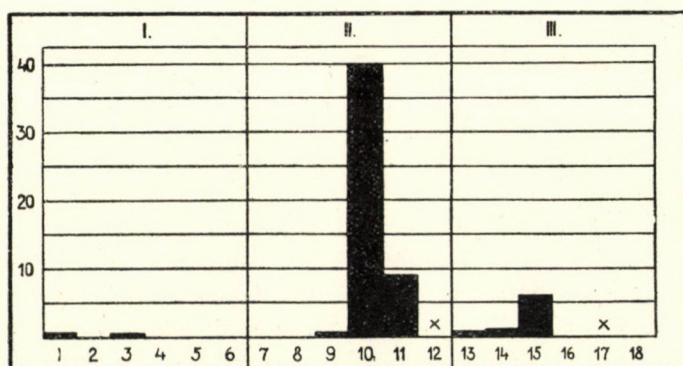


Abb. 3. *Cyclotella Meneghiniana* KÜTZ.

Stellen derselben Quelle vor mit 0,7—0,5%. In derselben geringen Menge ist diese Art im Moosbewuchs des Bassins der »Teknős-Quelle«. An den Uferstreifen des ruhig fliessenden Wassers dieser Quelle erreicht sie mit einer 40%igen Häufigkeit ihr maximales Vorkommen. Auf denselben Gebieten nimmt die Häufigkeit in der Bettmitte der Quelladern, wo das Wasser bereits schneller fliessst, im Verhältnis zur früheren Häufigkeit, bedeutend ab. Hier beträgt sie nur mehr 9% (Tafel I/32). Zwischen den Fadenalgen im Becken der »Kibugyanó-Quelle« sinkt die Häufigkeit in ruhig fliessendem Wasser, sowie in den kleinen Buchten mit schlammigem Grund bis 0,70—1%. Ihre maximale, 6%ige Häufig-

keit erreicht die Art in dieser Quelle auf den Fadenalgen, an den Stellen mit ruhig fliessendem Wasser des Quellbassins (Abb. 3).

3. *Diatoma vulgare* var. *producta* GRUN. Ihr Vorkommen in der »Mosó-Quelle« ist ganz unbedeutend mit einer geringeren als 1%igen Häufigkeit an den vor der Strömung geschützten Stellen sowie in langsam fliessendem Wasser. In der »Teknős-Quelle« fehlt die Varietät. Ihre Häufigkeit erreicht auf dem Moosbewuchs in der Bucht der »Kibuggyánó-Quelle« sowie auf den Gebieten mit schnell fliessendem Wasser 3%. Ebenda ist sie in der schnellen Strömung der Steinbänkchen vereinzelt anzutreffen.

4. *Meridion circulare* AGARDH. — Diese typische Bewohnerin der Quellen und Bäche (Tafel II/51, 52) kam in allen Quellbecken zum Vorschein. In dem Moosrasenüberzug auf dem felsigen Grund der »Mosó-Quelle« erreicht sie 13,30%. Ebenda ist sie an den vor der Strömung geschützten Stellen nur vereinzelt zu

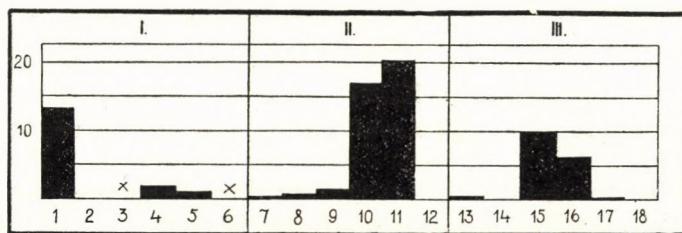


Abb. 4. *Meridion circulare* AGARDH

finden. In dem die Steinbank bedeckenden Moosbewuchs, auf Gebieten mit langsamer-schneller fliessendem Wasser beträgt die Häufigkeit 1–2%. Ihr maximales, 17–20,33%iges Vorkommen erreicht sie an den Uferstreifen der Wasseradern und im Bett der »Teknős-Quelle«. Im Quellbett selbst ist sie häufiger als an den Uferrändern. Im Felsenbewuchs des rauschend fliessenden Teiles derselben Quelle ist bereits kein einziges Exemplar findbar. In den zur »Kibuggyánó-Quelle« gehörenden kleinen Buchten mit schlammigem Grund kommt die Art gleichfalls nicht vor, ist aber auf den Algen und Moosen der schneller-langsam fliessenden Stellen mit einer Häufigkeit von 10–6,25% anzutreffen. Auch hier fehlt die Art im rauschend fliessenden Teil des Ausflusses, obwohl an gleicher Stelle der »Mosó-Quelle« einige Exemplare doch zum Vorschein kamen (Abb. 4).

5. *Fragilaria brevistriata* GRUN. kommt auf dem Moosbewuchs des felsigen Grunds der »Mosó-Quelle« vereinzelt vor. Im Detritus der »Teknős-Quelle«, an den vor der Strömung geschützten Stellen erreicht die Häufigkeit 3,56%, während zwischen den Fadenalgen im Bassin der »Kibuggyánó-Quelle« an gleichfalls ruhigen Stellen blass 2,66%. In den Teilen mit ganz schnell fliessendem Wasser fehlt die Art. Sie bevorzugt vor allem strömungsfreie, ruhigere Stellen.

6. *Fragilaria brevistriata* var. *inflata* (PANTOCSEK) HUST. kam nur an zwei Stellen vor: in dem unteren Teil des Bassins der »Mosó-Quelle« und im Moos der »Kibuggyánó-Quelle«. Die Häufigkeit überschritt nirgends 1%.

7. *Fragilaria capucina* DESMAZIERS kommt nur an einer Stelle, in den geschützten Winkeln der »Mosó-Quelle« vereinzelt vor.

8. *Fragilaria leptostauron* (EHR.) HUST. kommt gemeinsam mit voriger Art sporadisch vor. Die Häufigkeit der Art beträgt in den kleinen Buchten mit schlammigem Grund der »Kibuggyánó-Quelle« 1,6%. Das Wasser in diesen kleinen Buchten hat völlig stehenden Charakter.

9. *Fragilaria leptostauron* var. *dubia* GRUNOW kommt mit 4,50% an den vor der Strömung geschützten Stellen im tiefen Teil der »Mosó-Quelle« öfter als die Art selbst vor, ebenda auf den mit schnell fliessendem Wasser begossenen Steinbänkchen mit 0,50%. In der »Teknős-Quelle« wurde die Varietät nur an

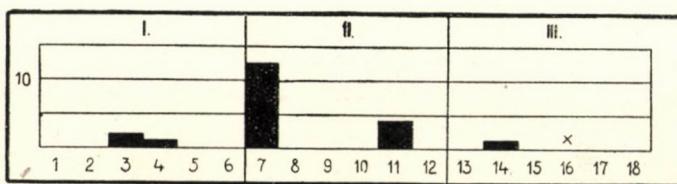


Abb. 5. *Fragilaria intermedia* GRUNOW

einer Stelle vereinzelt beobachtet. In der »Kibuggyánó-Quelle« ist sie zwischen den Fadenalgen des Beckens, auf Gebieten mit langsam fliessendem Wasser, mit einer Häufigkeit von 2,50% vertreten. Über ihr Vorkommen berichtet HUSTEDT: »Sehr zerstreut«, über die Verbreitung der Art schreibt er: »Im Litoral und im Grundschlamm, besonders in stehenden Gewässern, durch das ganze Gebiet verbreitet, meist vereinzelt vorkommend« [10, p. 154—155]. In den Quellen mit schnell strömendem Wasser fehlt die Varietät vollkommen.

10. *Fragilaria leptostauron* var. *rhomboides* GRUNOW. Mit 5,66% in den bachartigen Verzweigungen der »Teknős-Quelle«, in schnell fliessendem Wasser. An anderen Stellen war die Varietät überhaupt nicht zu finden.

11. *Fragilaria intermedia* GRUNOW. Die Art erreichte ihr maximales Vorkommen an den vor der Strömung geschützten Stellen, so z. B. im Becken der »Teknős-Quelle« 13%, hingegen auf den Steinen der bachartigen Verzweigung desselben Quellgebiets nur 4,33%. — In dem strömungsfreien unteren Teil des Beckens der »Mosó-Quelle« betrug die Häufigkeit 2,25%, hingegen auf den Steinbänkchen mit langsamer fliessendem Wasser 1,33%. Dasselbe Mass in den stehenden Gewässern der »Kibuggyánó-Quelle«, in den kleinen Buchten mit Schlammgrund. Vereinzelt ist die Art in der »Kibuggyánó-Quelle« auch in dem Moosrasenüberzug der Gebiete mit schnell fliessendem Wasser zu finden. An den übrigen Stellen fehlt sie fast völlig (Abb. 5).

12. *Fragilaria pinnata* EHR. Auf dem von uns untersuchten Gebiet konnten drei Maximalwerte im Vorkommen dieser Art beobachtet werden. Im Becken der »Teknós-Quelle«, an den strömungsgeschützten Stellen, auf den Fadenalgen sowie im Detritus 35%. In den kleinen schlammigen Buchten mit stehendem Wasser der »Kibugyanó-Quelle« 20,36%. Schliesslich in der »Mosó-Quelle«, an den strömungsfreien Stellen, im unteren Teil des Beckens 9,50%, auf den kleinen Steinbänkchen mit langsam fliessendem Wasser der zuletzt genannten Quelle bloss 3%, endlich an zwei Sammelstellen mit schnell strömendem Wasser nur mehr 1–1,50% (Abb. 6).

13. *Fragilaria pinnata* var. *elliptica* (SCHUMANN). Diese Varietät, die wir am Anfang unserer Untersuchungen gesondert beschrieben, erreicht in den

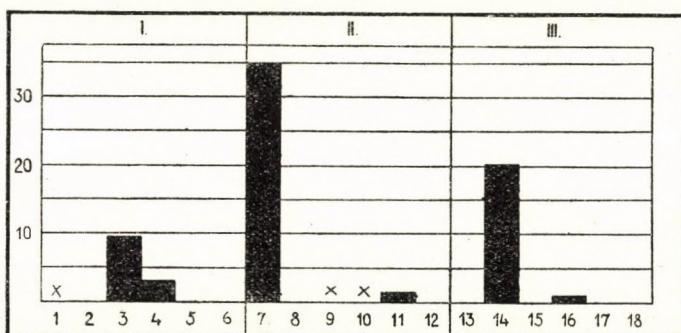


Abb. 6. *Fragilaria pinnata* EHR.

strömungsgeschützten unteren Winkeln des Beckens der »Mosó-Quelle« 3,75%. Die Trennung von der Art ist, wie es auch bereits HUSTEDT [10] feststellte, nicht richtig. Wir konnten an zahlreichen Exemplaren die Beobachtung machen, dass der Übergang zwischen Art und Varietät vollständig ist. Die gesonderte Bezeichnung ist nicht begründet.

14. *Fragilaria pinnata* var. *lancettula* (SCHUMANN) HUST. Die Häufigkeit ihres Vorkommens beträgt in den Becken der Quellen, an den strömungsfreien Sammelstellen sowie an den Stellen, wo zumindest eine langsame Strömung vorhanden ist, jeweils 4%, in den kleinen Buchten mit Schlammgrund hingegen 3,33%. Unter gleichen äusseren Bedingungen sind auch im Vorkommen die gleichen Werte zu beobachten. Ganz vereinzelt kommt die Varietät im rauschend fliessenden Teil der »Kibugyanó-Quelle« vor (Abb. 7).

15. *Synedra ulna* (NITZSCH) EHR. Die Art fehlt nur in den rauschenden Ausflussstellen der schnell fliessenden Quellen. Ihre Häufigkeit erreicht am Beckengrund der »Mosó-Quelle«, auf dem Moosrasenüberzug unter strömendem Wasser 15%, auf den Fadenalgen der »Kibugyanó-Quelle«, in langsam fliessendem Wasser 3,50%. Im Becken der »Teknós-Quelle« konnten wir an mehreren Stellen eine Häufigkeit von 0,60–2,66% beobachten. Ein ähnlich kleiner

prozentueller Wert ist auch im Becken der »Kibugyanó-Quelle« anzutreffen. Die Art fehlt völlig in dem rauschend fliessenden Teil der Quellen (Abb. 8).

16. *Synedra ulna* var. *oxyrhynchus* (KÜTZ.) VAN HEURCK. Die Häufigkeit der Varietät erreichte auf den Fadenalgen der vor der Strömung besser geschützten Stellen, im Detritus das Maximum von 5,28%. Ansonsten war an den übrigen Stellen mit langsamer oder schneller fliessendem Wasser eine Häufigkeit von

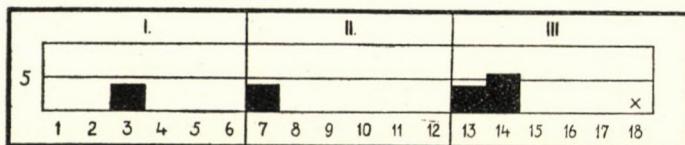


Abb. 7. *Fragilaria pinnata* var. *lancettula* (SCHUMANN) HUST.

1% oder eine noch geringere zu beobachten. Vollkommen fehlt die Varietät in den kleinen Buchten mit Schlammgrund sowie auch in dem rauschend fliessenden Teil der Quellen (Tafel II/35, 36).

17. *Synedra ulna* var. *biceps* (KÜTZ.) kam nur in ganz wenigen Exemplaren auf dem Moosrasenüberzug im Becken der »Teknős-Quelle« zum Vorschein (Tafel II/34).

18. *Synedra ulna* var. *spathulifera* GRUN. Ist vereinzelt auf den Algenfäden des Quellbeckens, auf dem Bewuchs der kleinen Steinbänkchen, in schneller-langsamer fliessendem Wasser anzutreffen.

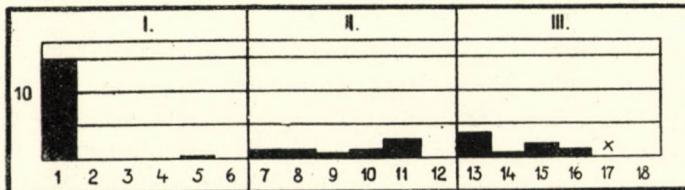


Abb. 8. *Synedra ulna* (NITZSCH.) EHR.

19. *Eunotia praerupta* EHR. — Die Art ist in der bachartigen Verzweigung der »Teknős-Quelle«, in schnell fliessendem Wasser, mit 2,66% anzutreffen. Auf den Moosen der Quellbucht und in den unteren geschützten Teilen des Quellbassins sinkt das Vorkommen unter 1%. Die Eunotia-Arten sind auf dem von uns untersuchten Quellgebiet überaus selten. Über ihr Vorkommen berichtet HUSTEDT: »Durchwegs Litoralform und im allgemeinen kalkarme oder kalkfreie Gewässer bevorzugung...« [11, p. 167] (Tafel II/49, 50).

20. *Cocconeis pediculus* EHR. Auf dem untersuchten Gebiet war die Art nur an zwei Stellen anzutreffen: in dem unteren geschützten Teil des Beckens der »Mosó-Quelle« mit 0,50%, ebenda auf den flachen kleinen Steinbänkchen, in langsam fliessendem Wasser, mit 8% der Benthos-Individuen (Tafel II/41, 42).

21. *Cocconeis diminuta* PANT. Diese Art wurde zuerst auf Grund ihres Vorkommens im Balaton von PANTOCSEK beschrieben. Die Art ist in Seen und langsam fliessenden Gewässern in ganz Europa allgemein verbreitet [10, p. 346]. Auf dem von uns untersuchten Gebiet kam die Art in zwei Becken vor: auf der kleinen Steinbank in der »Mosó-Quelle«, in langsam fliessendem Wasser, mit 1%, in der »Teknős-Quelle«, auf den Fadenalgen der vor der Strömung besser geschützten Stellen und im Detritus mit 2,57%. In den Uferstreifen der kleinen Wasseradern, auf den Gebieten von ruhig fliessendem Wasser 1,33%, in den bachartig breiter werdenden Wasseradern mit schnell strömendem Wasser bloss 1%, in dem strömenden Wasser des Quellbeckens hingegen nur 0,50%. An den Ausflussstellen der Quellen mit rauschend fliessendem Wasser kam die Art nur sporadisch vor. Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die Art in besser geschützten Quellbecken mit ruhigerem Wasserlauf anzutreffen ist, vor allem jedoch Gebiete mit stehenden Gewässern bevorzugt (Tafel II/44).

22. *Cocconeis placentula* (EHR.). Die Art kommt mit annähernd gleichen Werten an drei Stellen des untersuchten Gebiets vor. Die Häufigkeit erreicht auf den Moosrasenüberzügen des im Becken der »Mosó- und Teknős-Quelle« strömenden Wassers 5,75—5%, in dem Moosbewuchs der Oberfläche des glatten Steinbänkchens in langsam fliessendem Wasser gleichfalls 5%, hingegen auf den Moosen der »Kibugyanó-Quelle«, in schnell fliessendem Wasser, 2,25%. In dem rauschend strömenden Wasser kam die Art in einer quantitativ nachweisbaren Menge nicht vor. Nur im Abfluss einer Quelle konnten einige Exemplare festgestellt werden (Tafel II/43).

23. *Cocconeis placentula* var. *euglypta* (EHR.) CLEVE. Ihr maximales Vorkommen konnte in schnell fliessendem Wasser mit einer Häufigkeit von 9,50% festgestellt werden. Dieses Optimum gilt auch für den Moosrasenüberzug im Becken der »Kibugyanó-Quelle«. In den bachartigen, schnell fliessenden Verzweigungen der »Teknős-Quelle« erreicht die Häufigkeit 7,33%, in dem Algenüberzug auf den Steinbänkchen der »Mosó-Quelle« 6%, in dem Moosbewuchs auf den Wänden der »Teknős-Quelle«, in strömendem Wasser, 4,75%, an den übrigen Stellen 3—1%. In den Teilen mit rauschend fliessendem Wasser waren nur 1—2 Exemplare zu finden. Auf dem von uns untersuchten Gebiet war die Art weder an den geschützten Stellen mit stehendem Wasser noch an den einen völlig entgegengesetzten Charakter aufweisenden Schnellen in einer nennenswerten Menge zu beobachten. Ihr optimales Vorkommen erreicht die Art auf den Gebieten mit langsam, mittelschnell und schnell fliessendem Wasser.

24. *Cocconeis placentula* var. *lineata* (EHR.) CLEVE.

25. *Cocconeis placentula* var. *klinoraphis* GEITLER. Beide Varietäten kommen bloss unter 1% vor. Sie bevorzugen scheinbar die Gebiete mit ruhigem, langsam fliessendem Wasser.

Das beigefügte Graphikon veranschaulicht die gemeinsame Verbreitung

vom *Coccneis placentula* und ihrer Varietäten (Abb. 9). Die beiden Maxima von unter 10% sind auf Moosrasen mit schnell fliessendem Wasser zu finden. Die Häufigkeit auf den mit langsam fliessendem Wasser begossenen Gebieten der Steinbänkchen beträgt nur etwas mehr als 10%.

Die obige gesonderte Beschreibung des Vorkommens der Varietäten ist also vollkommen begründet. HUSTEDT schreibt darüber: »Die Art ist als Aufwuchs-Diatomee im ganzen Gebiet sehr gemein, die Varietäten sind im allgemeinen seltener, vielleicht aber nur als solche von den Autoren nicht besonders hervorgehoben« [11, p. 190].

26. *Coccneis disculus* SCHUM. Die Art kommt an einigen Stellen sporadisch vor und kann quantitativ nur im Moosbewuchs auf den Steinbänkchen der »Mosó-Quelle« nachgewiesen werden; ihre Anzahl ist aber auch hier gering.

27. *Achnanthes microcephala* KÜTZ. Die Häufigkeit der Art beträgt in den bachartig breiter werdenden Wasseradern, an den Stellen mit schnell

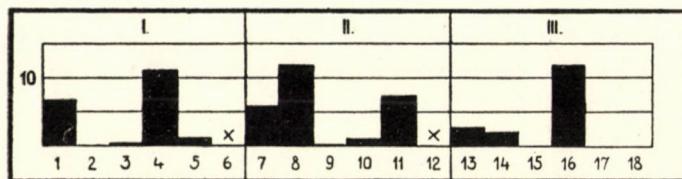
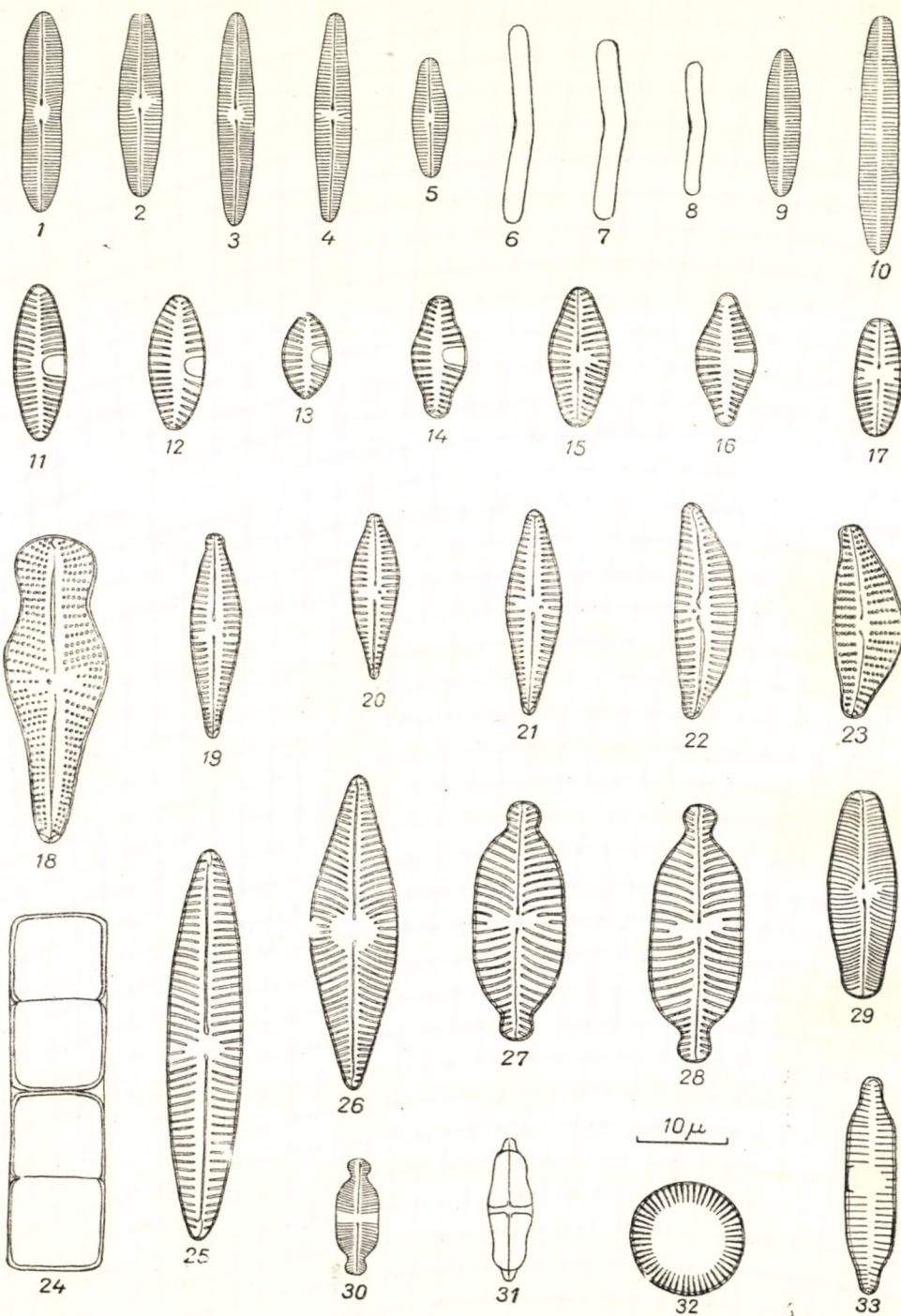


Abb. 9. *Coccneis placentula* und ihre Varietäten

fliessendem Wasser, 3,33%; im Moosrasenüberzug auf den Wänden des Quellbeckens, in fliessendem Wasser, in rauschend strömenden Schnellen, zwischen den Fadenalgen der Quellen 1,50%, in der reissenden Strömung der Steinbänkchen 1,33%. In grösseren Mengen konnte die Art in keiner Quelle von Tapolcaffö festgestellt werden.

28. *Achnanthes minutissima* KÜTZ. Die häufigste und auch in der grössten Menge vorkommende Kieselalge auf dem von uns untersuchten Gebiet (Tafel I/1—4, I/6—10). Ihr vollständiges Fehlen konnte an keiner einzigen Sammelstelle beobachtet werden, obwohl ihr Häufigkeitskoeffizient zwischen sporadisch und 100% schwankt. Der verschiedenartige ökologische Charakter der Gebiete bestimmt die jeweilige Verbreitung. In dem Felsenbecken mit rauschend strömendem Wasser der »Kibugyanó-Quelle« haftet die Diatomee in Form eines dünnen hautartigen Überzugs an dem Grund. Das Benthos wird fast nur von dieser einzigen Art gebildet. Im Benthos des rauschend strömenden Wassers konnten die übrigen Arten quantitativ gar nicht nachgewiesen werden. Ebenda werden auf der flachen glatten Steinfläche, unterhalb des fliessenden Wassers, die Kieselalgen-Individuen der 1—2 mm dicken gelblichbraunen Schicht zu 99% von *Achnanthes minutissima* gebildet. In dem von dem wasserfallartig ausfliessenden Wasser ausgewaschenen Kanal der »Mosó-Quelle« ist ein ähnlich

## Tafel I



massenhaftes Vorkommen zu beobachten. Die Diatomee bildete in dem den Bassingrund der »Teknős-Quelle« bedeckenden Moosbewuchs, in sehr schnell fliessendem Wasser, 86,60% der Bacillariophyceen. Auf dem mit sehr schnell fliessendem Wasser begossenen Steinbänkchen der »Mosó-Quelle« erreichte die Häufigkeit 77%. An der reissend fliessenden Ausgussstelle der »Teknős-Quelle« betrug sie 67%, in der schnellen Strömung auf den Steinbänkchen der »Kibugyanó-Quelle« 64,75%. Die Häufigkeitskoeffizienten zeigen im weiteren Verlauf bereits viel geringere Werte. So z. B. auf dem felsigen Grund im Becken der »Mosó-Quelle«, in dem strömenden Wasser des Moosrasenüberzugs, 37,40%, auf den Fadenalgen der »Kibugyanó-Quelle«, in langsam fliessendem Wasser, 33%, auf dem Moosbewuchs im Becken der »Teknős-Quelle«, in strömendem Wasser 25%. — Die weiteren Untersuchungen zeigten eine neuerliche Abnahme der Häufigkeit, die auf dem Steinbänkchen der »Mosó-Quelle«, in langsam fliessendem Wasser, nur mehr 17% beträgt, am Uferstreifen einer Wasserader der »Teknős-Quelle« 19%, doch im Quellbett selbst bloss 12%. Nur an zwei Stellen sank sie unter 10%, und zwar in den schlammigen kleinen Buchten mit stehendem Wasser der »Kibugyanó-Quelle« (8,66%) und an den strömungsfreien tieferen Stellen im Bassin der »Mosó-Quelle« (7,50%). Quantitativ nicht nachweisbar, d. h. sporadisch kam die Art nur an den mit Detritus bedeckten, vor der Strömung geschützten Stellen der »Teknős-Quelle« zum Vorschein (Abb. 10). Aus obigen Angaben geht hervor, dass die Diatomee ihr maximales Vorkommen mit ganz hervorragenden Werten an den Abflussstellen der Quellen bzw. in den Quellen mit rasch strömendem Wasser erreicht. HUSTEDT berichtet: »Sehr gemein im ganzen Gebiet, häufig auch in kleinen Wassersammlungen, in Brunnentrögen, Abflüssen, und . . . oft massenhaft« [11, p. 198].

29. *Achnanthes minutissima* var. *cryptocephala* GRUN. Die Varietät kommt in Becken der »Teknős-Quelle«, in ihren bachartigen Verzweigungen mit 2—6% vor. Im Bett der bachartigen Verzweigung beträgt die Häufigkeit 6%, im Moosbewuchs des Beckens, auf den Seitenwänden 2%, auf dem Grund 3%.

30. *Achnanthes linearis* W. SMITH. Im Becken der »Teknős-Quelle«, in fliessendem Wasser, auf den Moosen ist das Vorkommen 2,50%, auf den Steinbänkchen der »Mosó-Quelle« 2%, in den geschützteren Teilen ihres Beckens 1%, im Becken der »Kibugyanó-Quelle« auf den Fadenalgen 0,50%. In einer Quelle mit rauschend strömendem Wasser kam die Art vereinzelt vor. Sie ist

Abb. 1—4. *Achnanthes minutissima* KÜTZ., 5. *Achnanthes linearis* W. SMITH., 6—10. *Achnanthes minutissima* KÜTZ., 11—13. *Achnanthes lanceolata* BREB., 14. *Achnanthes lanceolata* var. *rostrata* HUST., 15. *Achnanthes lanceolata* BREB., 16. *Achnanthes lanceolata* var. *rostrata* HUST., 17. *Achnanthes lanceolata* BREB., 18. *Gomphonema constrictum* EHR., 19—20. *Gomphonema parvulum* (KÜTZ.) GRUNOW, 22. *Cymbella affinis* KÜTZ., 23. *Cymbella cistula* (HEMPRICH) GRUN., 24. *Melosira varians* C. A. AG., 25. *Navicula gracilis* EHR., 26. *Navicula cryptocephala* KÜTZ., 27—28. *Navicula dicephala* (EHR.) W. SMITH, 29. *Navicula pupula* KÜTZ., 30. *Achnanthes exigua* var. *heterovalvata* KRASSKE, 31. *Stauroneis Smithii* GRUN., 32. *Cyclotella Meneghiniana* KÜTZ., 33. *Synedra Vauheriae* KÜTZ. Tafel I—III ad nat. del. M. BÁNÁTI

hauptsächlich in Gebirgsgegenden verbreitet. Auf dem von uns untersuchten Gebiet konnte die Art nirgends in grösserer Menge festgestellt werden (Tafel I/5).

31. *Achnanthes exilis* KÜTZ. Ihr maximales Vorkommen erreichte die Art auf den Fadenalgen im Becken der »Kibuggyanó-Quelle«, in langsam fliessendem Wasser, mit 25%. An der Ausflussstelle der »Teknős-Quelle«, im Felsenbett, unter rauschend fliessendem Wasser 10,20%, in dem die Wände des Quell-

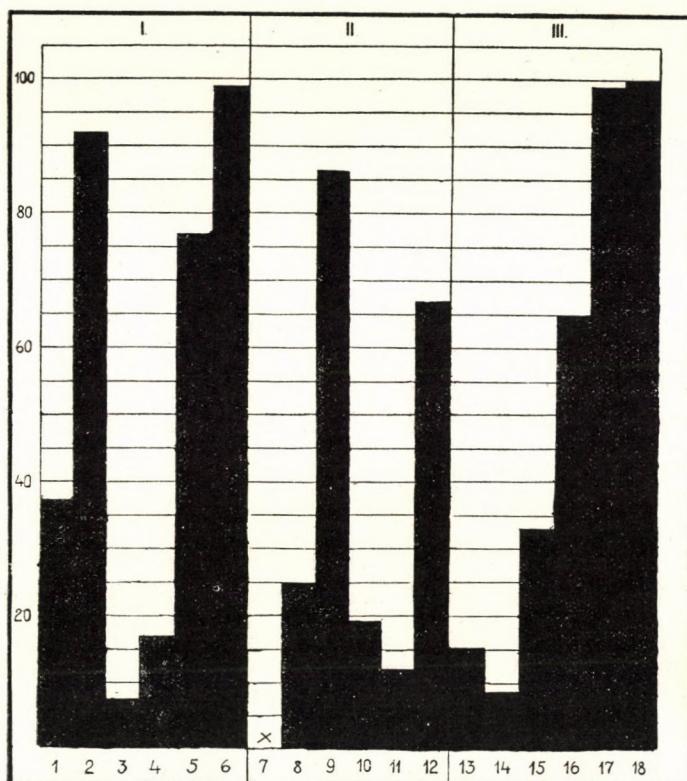


Abb. 10. *Achnanthes minutissima* KÜTZ.

beckens bedeckenden Moosbewuchs 3,75%. Ausserdem kam die Art noch an 8 Stellen mit einer geringeren als 3%igen Häufigkeit vor, an ein-zwei Stellen auch sporadisch. Durch die Schnelligkeit der Wasserbewegung wird die Verbreitung nicht entscheidend beeinflusst. Die Art kommt sowohl an geschützteren Stellen als auch in der stärksten Strömung vor (Abb. 11).

32. *Achnanthes affinis* GRUN. war in dem Becken der »Teknős-Quelle« sowohl an den Stellen mit fast stehendem als auch an solchen mit langsam fliessendem Wasser, auf Fadenalgen, im Moosbewuchs mit einer Häufigkeit von 0,57—1% anzutreffen.

33. *Achnanthes hungarica* GRUN. kommt nur unter 1% vor, und zwar auf den kleinen Steinbänkchen der »Mosó-Quelle« und in den schlammigen kleinen Buchten mit stehendem Wasser der »Kibuggyanó-Quelle«.

34. *Achnanthes andicola* (CLEVE) HUST. kommt an den vor der Strömung besser geschützten Stellen des Quellbeckens, sowie auf dem Steinbänkchen mit langsam fliessendem Wasser mit ungefähr 2% vor, und war nur an zwei Sammellestellen zu beobachten.

35. *Achnanthes exigua* var. *heterovalvata* KRASSKE, kommt im Becken der »Kibuggyanó-Quelle« nur vereinzelt vor (Tafel I/30).

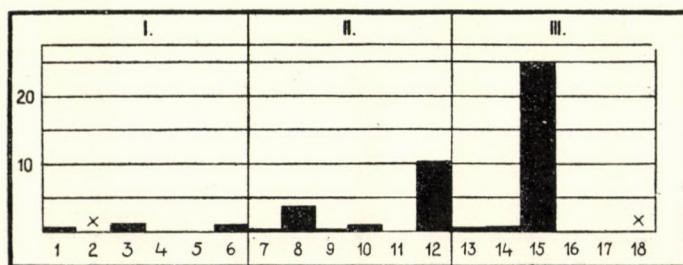


Abb. 11. *Achnanthes exilis* KÜTZ.

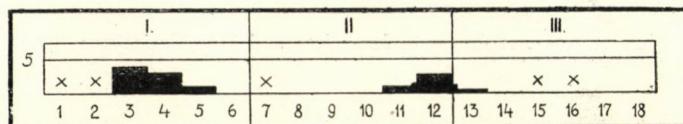


Abb. 12. *Achnanthes Clevei* GRUN.

36. *Achnanthes Clevei* GRUN. Das Maximum, doch auch dieses mit nur 4%, ist an den vor der Strömung geschützten Stellen der Quellbecken zu beobachten. Auf den Gebieten der Steinbänkchen mit langsam fliessendem Wasser beträgt die Häufigkeit 3%, in dem rauschend strömenden Teil der einen Quelle nur mehr 2,70%. Ein zwischen 1—0,5% schwankendes Vorkommen noch an einigen Stellen sowie vereinzelt an vielen Plätzen der Quellen, massenhaftes Vorkommen nirgends wahrnehmbar (Abb. 12).

37. *Achnanthes Clevei* var. *rostrata* HUST. Die Varietät ist nur vereinzelt im Becken der »Teknős-Quelle«, an strömungsgeschützteren Stellen, an Fadenalgen zu beobachten.

38. *Achnanthes lanceolata* BREB. Die Häufigkeit erreicht auf dem Steinbänkchen im Becken der »Mosó-Quelle«, in schnell fliessendem Wasser 6,60%; auf den Fadenalgen im Becken der »Kibuggyanó-Quelle«, in langsam fliessendem Wasser 7%, ebenda in den kleinen schlammigen Buchten mit stehendem Wasser 5%. Im schnell fliessenden Wasser im Becken der »Teknős-Quelle« beträgt sie

3,33%, im langsam fliessenden Wasser im Becken der »Mosó-Quelle«, an den strömungsfreieren Stellen 2,50—3%. An den übrigen Sammelstellen bewegen sich die Werte im allgemeinen unter 2%. In dem rauschend strömenden Teil der Quellen sind nur 1—2 Exemplare zu finden (Tafel I/11—13, 15, 17).

39. *Achnanthes lanceolata* var. *capitata* O. MÜLL. Auf dem Steinbänkchen, im Quellbecken eine Schwankung zwischen 0,25—2,50%. Die Varietät kommt bedeutend seltener als die Art, insgesamt an zwei Stellen vor.

40. *Achnanthes lanceolata* var. *rostrata* HUST. Im Zusammenhang mit der Verbreitung dieser Varietät hebt HUSTEDT hervor, dass sie die weniger bewegten Gewässer bevorzugt. Unsere auf dem Quellgebiet von Tapolcafő durchgeföhrten Untersuchungen bestätigen die Feststellung von Hustedt. Das optimale Vorkommen der Varietät konnte in den vor der Strömung besser geschützten, unteren Teilen des Quellbassins beobachtet werden. Hier bildete sie 8,50% der Individuen

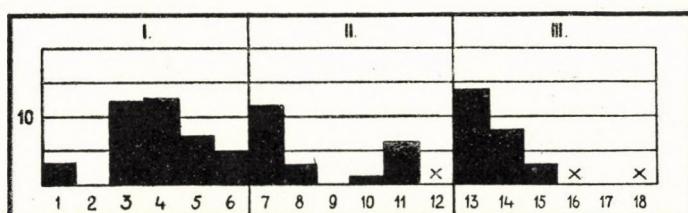


Abb. 13. *Achnanthes lanceolata* und ihre Varietäten

des Gesamtbenthos. Gleichfalls mit einer grösseren Menge, mit 6,28%, war die Varietät an der Ausbildung des Benthos in einem anderen Quellbecken, an den strömungsgeschützten, mit Detritus bedeckten Stellen beteiligt. Auf dem mit langsam fliessendem Wasser begossenen Steinbänkchen des Quellbassins erreichte die Häufigkeit 5,66%, ebenda, in schnell fliessendem Wasser nur mehr 0,50%, endlich in dem Moosbewuchs auf dem Grund des felsigen Beckens, im strömenden Wasser, 1,30%. Schliesslich ist noch das Vorkommen der Varietät in der »Kibugyanó-Quelle« zu erwähnen. Hier, in den kleinen Buchten mit Schlammgrund, betrug die Häufigkeit 3%, im inneren Becken hingegen, im langsam fliessenden Wasser 2%. In dem rauschend strömenden Teil der Quellen kam die Varietät nicht einmal sporadisch vor (Tafel I/14).

41. *Achnanthes lanceolata* var. *elliptica* CLEVE. Die Häufigkeit der Varietät erreicht an den vor der Strömung besser geschützten Stellen, mit langsam ruhig fliessendem Wasser 4—4,75%, in den kleinen Buchten mit schlammigem Grund und stehendem Wasser 3%, doch ist dieser Wert auch auf den kleinen Steinbänkchen mit langsam fliessendem Wasser anzutreffen.

Das beigefügte Graphikon veranschaulicht die Verbreitung von *Achnanthes lanceolata* und ihrer Varietäten (Abb. 13). Ihr maximales Vorkommen schwankt

zwischen 10—15%. Diese Optimalwerte waren vor allem auf strömungsfreien oder auf Gebieten mit zumindest ruhig fliessendem Wasser zu finden.

42. *Rhoicosphenia curvata* (KÜTZ.) GRUN. kam nur vereinzelt, in dem vor der Strömung besser geschützten Teil im Becken der »Mosó-Quelle« vor.

43. *Amphipleura pellucida* KÜTZ. war an den strömungsgeschützteren Stellen, im Becken der »Teknős-Quelle«, zwischen Fadenalgen zu finden.

44. *Frustulia rhomboidea* (EHR.) DE TONI kommt sporadisch im Becken der »Mosó-Quelle«, an strömungsgeschützter Stelle vor.

45. *Frustulia vulgaris* THWAITES ist mit der vorigen Art zusammen in 1—2 Exemplaren anzutreffen. Sporadisch an den vor der Strömung geschützten Stellen im Becken der »Kibugyanó-Quelle« sowie der »Teknős-Quelle«.

46. *Caloneis alpestris* (GRUN.) CLEVE. Sporadisch auf den Steinen der bachartig breiter werdenden Verzweigung der »Teknős-Quelle«, in schnell strömendem Wasser.

47. *Caloneis bacillum* (GRUN.) CLEVE. Das Maximum der Art beträgt in schwach strömendem Wasser, im Becken der »Teknős-Quelle« 5%. Kommt auch an mehreren Stellen mit weniger als 1% vor. An den Ausflussstellen mit rauschend fliessendem Wasser ist diese Art nicht einmal vereinzelt anzutreffen, doch ebenso fehlt sie in den Becken mit reissend fliessendem Wasser.

48. *Caloneis bacillum* var. *lancettula* (SCHULZ) HUSTEDT kommt in strömungsgeschützten Teil des Beckens der »Mosó-Quelle« sowie in den äusseren kleinen Buchten mit Schlammgrund der »Kibugyanó-Quelle« mit ungefähr 0,50% vor.

49. *Caloneis lepidula* (GRUN.) CLEVE ist auf den Fadenalgen sowie im Detritus des Beckens der »Teknős-Quelle« vereinzelt auffindbar.

50. *Caloneis silicula* var. *gibberula* (KÜTZ.) GRUNOW kommt im Becken der »Kibugyanó-Quelle«, an den Stellen mit langsam ruhigem Wasserlauf sporadisch vor.

51. *Caloneis silicula* var. *truncatula* GRUNOW. Das Maximum der Varietät überschreitet nirgends 1,50%, und ist im allgemeinen an den geschützteren Stellen der Quellbecken oder an den Stellen mit langsamer fliessendem Wasser anzutreffen.

52. *Neidium iridis* f. *vernalis* REICHELT bloss sporadisch in den kleinen Quellbuchten mit schlammigem Grund und stehendem Wasser (Tafel III/62).

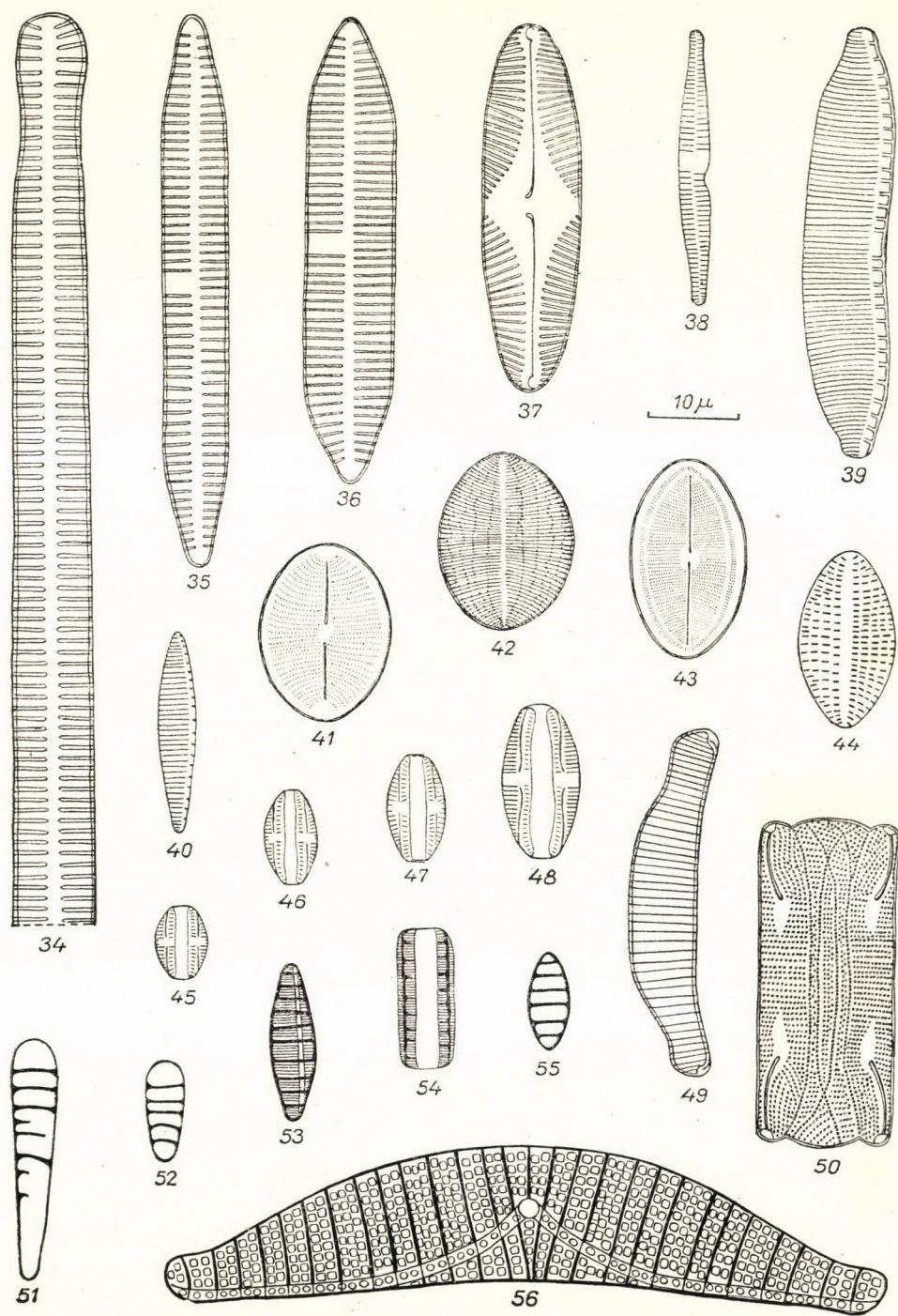
53. *Diploneis ovalis* (HILSE) CLEVE kommt vereinzelt an der strömungsgeschützten Stelle, im Becken der »Mosó-Quelle« vor.

54. *Diploneis ovalis* var. *oblongella* (NAEGELI) CLEVE ist an der Ausgussstelle der »Teknős-Quelle«, im Felsenbett sporadisch zu finden.

55. *Diploneis puella* (SCHUMANN) CLEVE kommt im Moosbewuchs, auf dem felsigen Grund des Quellbeckens sowie auf den Kieselalgen der Becken mit einigen wenigen Exemplaren vor.

56. *Stauroneis anceps* f. *linearis* (EHR.) CLEVE. Das vereinzelte Vorkommen

## Tafel II



der Art ist neben dem Becken der »Kibuggyanó-Quelle«, in den kleinen Buchten mit schlammigem Grund zu beobachten.

57. *Stauroneis Smithii* GRUN. Die Art erreicht im unteren Teil des Beckens der »Mosó-Quelle«, an der vor der Strömung geschützteren Stelle eine Häufigkeit von 1,50%. Einige wenige Exemplare kommen in der äusseren schlammigen Bucht der »Kibuggyanó-Quelle« sowie in dem Teil mit langsam fliessendem Wasser des Beckens vor (Tafel I/31).

58. *Anomoeoneis sphaerophora* (KÜTZ.) PFITZNER. Das Maximum beträgt in der »Kibuggyanó-Quelle«, in der äusseren kleinen Bucht mit schlammigem Grund 1%, in der Nähe, im inneren Becken 0,50%, und kommt auf den Steinbänkchen der »Mosó-Quelle« vereinzelt vor (Tafel III/63).

59. *Anomoeoneis styriaca* (GRUN.) HUST. Es konnten insgesamt nur einige Exemplare im strömungsgeschützten Teil des Beckens der »Mosó-Quelle« beobachtet werden. HUSTEDT hebt diesen Umstand so hervor: »Wahrscheinlich nordischalpin« [11]. CLEVE-EULER erwähnt die Art an mehreren Stellen in Schweden und Finnland [7].

60. *Navicula anglica* RALFS. Im Becken der »Teknős-Quelle« nur sporadisch. In den äusseren schlammigen Buchten der »Kibuggyanó-Quelle« 4,33%. Die Art konnte sonst nirgends beobachtet werden.

61. *Navicula bacillum* EHR. Nur vereinzelt im Becken einer der Quellen.

62. *Navicula bicapitellata* HUST. Ist — aber nur mit 1—2 Exemplaren — im strömungsgeschützten Teil des Quellbeckens anzutreffen.

63. *Navicula cryptocephala* KÜTZ. Das Maximum der Art ist in der schlammigen Bucht des äusseren Beckens der »Kibuggyanó-Quelle« 3%, während sie am Boden des Detritus, im Becken der »Teknős-Quelle«, zwischen den Fadenalgen, 2% beträgt. Ein vereinzeltes Vorkommen ist auf den von langsam fliessendem Wasser begossenen Steinbänkchen der »Mosó-Quelle« zu beobachten (Tafel I/26).

64. *Navicula cryptocephala* var. *intermedia* GRUN. Die Varietät erreicht im Becken der »Kibuggyanó-Quelle«, zwischen Fadenalgen, in langsam fliessendem Wasser 2,73%.

65. *Navicula cuspidata* KÜTZ. ist vereinzelt im Becken der »Teknős-Quelle«, an der vor der Strömung geschützteren Stelle zu finden.

66. *Navicula dicephala* (EHR.) W. SMITH. Die Art erreicht am Boden des äusseren schlammigen Beckens neben der »Kibuggyanó-Quelle« 5,36%, während

---

Abb. 34. *Synedra ulna* var. *biceps* (KÜTZ.), 35—36. *Synedra ulna* var. *oxyrhynchus* (KÜTZ.), 37. *Pinnularia microstauron* var. *Brebissonii* (KÜTZ.) HUST., 38. *Synedra rumpens* KÜTZ., 39. *Hantzschia amphioxys* (EHR.) GRUN., 40. *Nitzschia amphibia* GRUN., 41—42. *Cocconeis pediculus* EHR., 43. *Cocconeis placentula* (EHR.), 44. *Cocconeis diminuta* PANT., 45—48. *Amphora ovalis* var. *pediculus* KÜTZ., 49—50. *Eunotia praerupta* EHR., 51—52. *Meridion circulare* AGARDH, 53—55. *Denticula tenuis* var. *crassula* (NAEGELI) HUST., 56. *Epithemia turgida* (EHR.) KÜTZ.

sie im Becken und auf den Steinbänkchen der »Mosó-Quelle« nur sporadisch vorkommt (Tafel II/27—28).

67. *Navicula exigua* (GREGORY) O. MÜLLER — sporadisch an verschiedenen Stellen. Ihr Maximum an der strömungsgeschützten Stelle im Becken der »Mosó-Quelle« 1%.

68. *Navicula falaciensis* GRUN. Seltene Art! In den schlammigen kleinen Buchten der »Kibuggyanó-Quelle« mit 1—2 Exemplaren findbar.

69. *Navicula falaciensis* var. *lanceolata* GRUN. kommt mit der vorigen Art zusammen gleichfalls nur sporadisch vor.

70. *Navicula gracilis* EHR. erreicht ihre maximale Häufigkeit im Becken der »Teknős-Quelle« mit 1,70%, auf den Steinbänkchen der »Mosó-Quelle« 1%. In den schlammigen kleinen Buchten der »Kibuggyanó-Quelle« ist die Art nur vereinzelt anzutreffen (Tafel I/25).

71. *Navicula Grimmei* KRASSKE. Nur im Becken der »Mosó-Quelle«, an strömungsgeschützter Stelle, mit 1%. Anderswo war die Art nicht zu finden.

72. *Navicula Kotschyi* GRUN. Sporadisches Vorkommen an einigen Stellen. Erreichte nicht einmal eine 1%ige Häufigkeit.

73. *Navicula laterostrata* HUST. Nur ein-zwei Exemplare in der »Kibuggyanó-Quelle«.

74. *Navicula menisculus* SCHUMANN erreicht je ein Prozent in den Becken der »Mosó-Quelle« und der »Kibuggyanó-Quelle«. Im rauschend fliessenden Teil einige Exemplare.

75. *Navicula minuscula* GRUN. Sporadisches Vorkommen an einer Stelle im Quellbecken.

76. *Navicula mutica* KÜTZ.

77. *Navicula mutica* var. *Cohnii* (HILSE) GRUN.

78. *Navicula mutica* var. *nivalis* (EHR.) HUST. Die Art und ihre Varietäten kommen vereinzelt an einigen Stellen vor, erreichen aber nicht einmal 1%.

79. *Navicula placentula* (EHR.) GRUN. kommt sporadisch in den Becken der »Kibuggyanó-Quelle« und der »Mosó-Quelle« vor.

80. *Navicula placentula* f. *jenisseensis* (GRUN.) MEISTER. Die Häufigkeit beträgt in dem unteren geschützteren Teil der »Mosó-Quelle«, an strömungsfreier Stelle 2%, auf den Moosen der »Kibuggyanó-Quelle«, an Stellen mit schnell fliessendem Wasser kommt die Art nur vereinzelt vor.

81. *Navicula placentula* var. *rostrata* A. MAYER. Nur sporadisch an einer Stelle, in den kleinen Buchten mit schlammigem Grund der »Kibuggyanó-Quelle«.

82. *Navicula pupula* KÜTZ. (Tafel I/29).

83. *Navicula pupula* var. *capitata* HUST.

84. *Navicula pupula* var. *elliptica* HUST.

85. *Navicula pupula* var. *rectangularis* (GREGORY) GRUN. Die typische Art selbst kommt nur ganz vereinzelt vor. Die Varietäten sind schon etwas häufiger anzutreffen, und zwar vor allem im Becken der »Kibuggyanó-Quelle«,

an Stellen mit langsam fliessendem Wasser, zwischen Fadenalgen, sowie auf dem schlammigen Grund der kleinen Buchten mit stehendem Wasser. An der letztgenannten Stelle erreichen Art und Varietäten ihr Maximum, doch wird das 1% auch dort nicht überschritten.

86. *Navicula radiososa* KÜTZ. In den Quellbecken im allgemeinen zwischen 0,25—0,50%.

87. *Navicula Reinhardtii* GRUN. Das Maximum beträgt 2,50% und ist im unteren Teil des Beckens der »Mosó-Quelle«, an strömungsgeschützter Stelle zu beobachten. In dem Becken der »Kibuggyanó-Quelle« beträgt die Häufigkeit in dem Teil mit stehendem bzw. langsam fliessendem Wasser 1%. Ein sporadisches Vorkommen ist auf den Steinbänkchen in schnell fliessendem Wasser festzustellen.

88. *Navicula rhynchocephala* KÜTZ. kommt im allgemeinen mit der vorigen Art zusammen vor. Ihr Maximum beträgt, gleichfalls im Becken der »Mosó-Quelle«, an geschützter Stelle, 2,25%. Im Becken der »Kibuggyanó-Quelle« erreicht sie 2%, im strömungsgeschützten Detritus der »Teknős-Quelle« 0,70%.

89. *Navicula Roteana* (RABH.) GRUN. in den kleinen Buchten neben der »Kibuggyanó-Quelle« nur sporadisch. Nach der Feststellung von Hustedt ist die Art besonders in Gebirgsbächen und in Quellen verbreitet.

90. *Navicula similis* KRASSKE mit voriger Art zusammen in einigen Exemplaren.

91. *Navicula simplex* KRASSKE. Die Häufigkeit erreicht in dem unteren geschützten Teil des Beckens der »Mosó-Quelle« 1,50%, in der äusseren schlammigen Bucht der »Kibuggyanó-Quelle« 1%, ebenda im inneren Becken 0,50%.

92. *Pinnularia microstauron* (EHR.) CLEVE. Die Art ist mit weniger als 1% in den strömungsfreieren Teilen des Beckens der »Mosó-Quelle« sowie in den schlammigen Buchten mit stehendem Wasser der »Kibuggyanó-Quelle« zu beobachten.

93. *Pinnularia microstauron* var. *Brebissonii* (KÜTZ.) HUST. kommt im allgemeinen mit der vorigen Art zusammen vor. Ihr Maximum ist 1% (Tafel II/37).

94. *Pinnularia microstauron* f. *diminuta* GRUN. kommt sporadisch mit ganz wenigen Exemplaren im Becken der »Teknős-Quelle« vor.

95. *Pinnularia molaris* GRUN. Selten! Ein-zwei Exemplare mit der vorigen Art zusammen.

96. *Amphora Normani* RABH. Sporadisch im bachartig erweiterten Bett der »Teknős-Quelle«, in schnell fliessendem Wasser.

97. *Amphora ovalis* KÜTZ. Das Maximum der Art ist mit 1% auf dem Steinbänkchen der »Mosó-Quelle« anzutreffen. Fast an allen Stellen, wo die Art vorkommt, finden wir langsam fliessendes Wasser, doch ist sie vor allem für stehende Gewässer charakteristisch. Im allgemeinen ist ein sporadisches Vorkommen der Art zu beobachten.

98. *Amphora ovalis* var. *pediculus* KÜTZ. Die Varietät kommt bedeutend häufiger vor als die Art. Ihr Maximum ist in Gebieten mit ruhig strömendem Wasser anzutreffen und beträgt auf den Wänden im Becken der »Teknős-Quelle«, zwischen den Bacillariophyceen des Moosbewuchs 18,25%, hingegen im Moosrasenüberzug auf dem Grunde des Bassins der »Mosó-Quelle« 8,30%. In demselben Quellbecken schwankt die Häufigkeit an den Stellen mit langsam fliessendem Wasser zwischen 3,75—3%. An den Stellen mit rauschend fliessen-

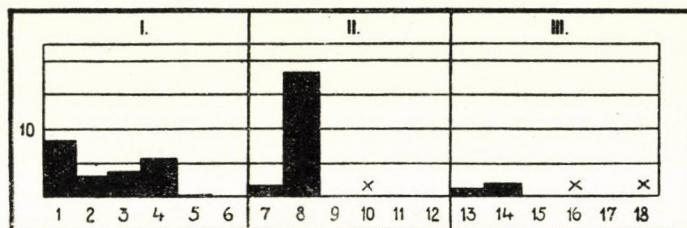


Abb. 14. *Amphora ovalis* var. *pediculus* KÜTZ.

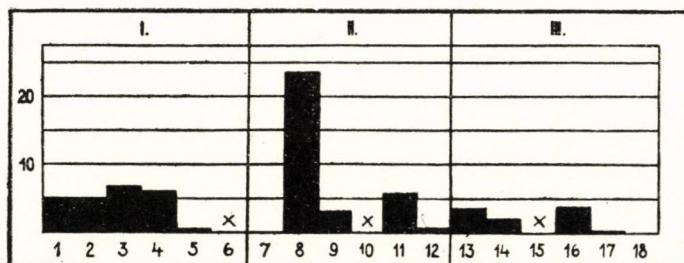


Abb. 15. *Amphora perpusilla* GRUN.

dem Wasser fehlt die Varietät, nur an der Ausflussstelle der »Kibugyanó-Quelle« ist sie in einigen wenigen Exemplaren zu finden (Abb. 14, Tafel II/45—48).

99. *Amphora perpusilla* GRUN. kommt im allgemeinen mit der vorigen Varietät zusammen, doch etwas häufiger als diese vor. Auch bei dieser Art ist das Maximum mit 23,50% in dem Moosbewuchs zu finden, der die Wände des Bassins in der »Kibugyanó-Quelle« bedeckt. An zahlreichen Sammelstellen kommt sie mit einer 5%igen Häufigkeit vor. An den Ausflussstellen mit rauschend fliessendem Wasser sind einige Exemplare anzutreffen (Abb. 15).

100. *Amphora veneta* KÜTZ. Die Art ist nur an einigen Stellen zu finden. Sie erreicht 3,25% in dem die Wände der »Teknős-Quelle« bedeckenden Moosrasenüberzug. An einigen Stellen derselben Quelle ist die Art sporadisch anzutreffen. Die Häufigkeit auf dem Steinbänkchen der »Teknős-Quelle« beträgt 0,66% (Tafel I/22).

101. *Cymbella affinis* KÜTZ. findbar an zahlreichen Stellen des von uns untersuchten Gebiets. Ihr Maximum von 12% ist im Ausflussbett der »Teknős-Quelle«, in sehr schnell fliessendem Wasser. Auf dem Steinbänkchen der »Mosó-Quelle«, auf Gebieten mit schnell fliessendem Wasser beobachteten wir 6,50%, auf Gebieten mit langsam fliessendem Wasser nur 2%. An den ähnlichen Stellen der »Teknős-Quelle« fanden wir ungefähr dieselben Werte. In den strömungsgeschützten Teilen des Beckens sowie an den Stellen mit langsam fliessendem Wasser schwankte das Ergebnis zwischen 0,42—0,25%. Im Becken der »Kibugyanó-Quelle«, in langsam fliessendem Wasser erreicht sie 0,66% (Abb. 16).

102. *Cymbella cistula* (HEMPRICH) GRUN. Eine zwischen 1,24—1% schwankende Häufigkeit wurde im Becken der »Teknős-Quelle«, auf Fadenalgen, im Detritus, ferner in den Überzügen im Becken der »Kibugyanó-Quelle« beobach-

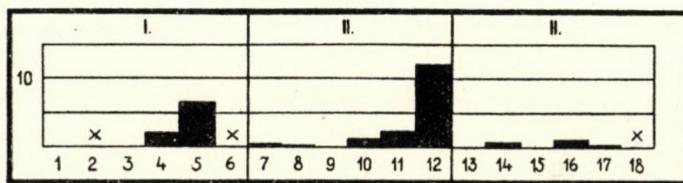


Abb. 16. *Cymbella affinis* KÜTZ.

tet, während sie auf dem Steinbänkchen der »Mosó-Quelle«, in langsam fliessendem Wasser nur sporadisch zu finden ist (Tafel I/23).

103. *Cymbella cymbiformis* (AGARDH? KÜTZ.) VAN HEURCK. Wir fanden die Art im Becken der »Kibugyanó-Quelle«, in langsam fliessendem Wasser mit 1,25%. In der »Mosó-Quelle« kam sie auf der Oberfläche der flachen Steinbänkchen nur sporadisch vor.

104. *Cymbella microcephala* GRUN. Das Vorkommen beträgt in der »Kibugyanó-Quelle«, in den äusseren kleinen Buchten mit schlammigem Grund 2,36%, in den unteren geschützten Winkeln der »Mosó-Quelle« 7%. Dieses entspricht dem Maximum. Ebenda erreicht es im Moosbewuchs auf dem felsigen Grund des Beckens, unter strömendem Wasser nur mehr 1,30%. Ausserdem an 1—2 Stellen noch sporadisch.

105. *Cymbella prostata* (BERKELEY) CLEVE. Die Art ist an mehreren Stellen zu finden, am häufigsten noch im Becken der Quellen, überschreitet aber nirgends das 1%.

106. *Cymbella sinuata* GREGORY. Die Art kommt mit einer 1%igen Häufigkeit an den Stellen mit schnell fliessendem Wasser der bachartig erweiterten Verzweigungen der »Teknős-Quelle« vor. Im Becken der »Kibugyanó-Quelle« erreicht sie nur 0,50%. Auf den Steinbänkchen der »Mosó-Quelle«, in langsam fliessendem Wasser, ist nur ein sporadisches Vorkommen zu beobachten.

107. *Cymbella tumidula* GRUN. ist in den tiefen, strömungsgeschützten Teilen im Becken der »Mosó-Quelle« mit einigen Exemplaren vertreten.

108. *Cymbella ventricosa* KÜTZ. Die Art kommt an vielen Stellen sporadisch vor. Ihre maximale 2%ige Häufigkeit ist im Becken der »Teknős-Quelle« zwischen Fadenalgen.

109. *Gomphonema acuminatum* EHR. Sporadisch an wenigen Stellen, in Quellbecken und in Buchten mit schnell fliessendem Wasser.

110. *Gomphonema acuminatum* var. *coronata* (EHR.) W. SMITH. Einige Exemplare der Art sind im Becken der »Mosó-Quelle«, an strömungsgeschützten Stellen.

111. *Gomphonema angustatum* (KÜTZ.) RABH. Ihr Maximum von 7% erreicht die Art in der »Kibugyanó-Quelle«, in den kleinen Buchten mit schlammigem Grund und stehendem Wasser. Ebenda im inneren Becken, auf den Fadenalgen des strömenden Wassers 2,25%. Ein bedeutenderes Vorkommen ist im Becken der »Mosó-Quelle«, im strömungsgeschützten unteren Teil festzustellen, wo sie 3,25% erreicht. Mit weniger als 1% ist die Art an mehreren Stellen zu finden.

112. *Gomphonema angustatum* var. *producta* GRUN. Sporadisches Vorkommen auf dem Steinbänkchen im Becken der »Mosó-Quelle«, an Stellen mit schnell fliessendem Wasser.

113. *Gomphonema augur* EHR. kam vereinzelt, mit ganz wenigen Exemplaren im Becken der »Mosó-Quelle«, in den vor der Strömung besser geschützten unteren Teilen vor.

114. *Gomphonema bochemicum* REICHELT & FRICKE. Auf dem Steinbänkchen, an Stellen mit langsam fliessendem Wasser mit 2%. Ebenda in dem nahen Quellbecken nur vereinzelt.

115. *Gomphonema constrictum* EHR. Die Art erreicht im Becken der »Kibugyanó-Quelle«, auf Fadenalgen, in langsam fliessendem Wasser 1%, in der bachartig erweiterten Verzweigung der »Teknős-Quelle«, in schnell fliessendem Wasser 0,66%. An mehreren Stellen sind etliche Exemplare zu finden (Tafel I/18).

116. *Gomphonema constrictum* var. *capitata* (EHR.) CLEVE kam nur an einer Stelle vor: im Becken der »Teknős-Quelle«, auf den Fadenalgen der vor der Strömung geschützten Stellen. Häufigkeit: 3,75%.

117. *Gomphonema intricatum* KÜTZ. Vereinzelt im Moosbewuchs, der die Seitenwände im Becken der »Teknős-Quelle« bedeckt.

118. *Gomphonema lanceolatum* var. *insignis* (GREGORY) CLEVE. Sporadisch in den kleinen schlammigen Buchten mit stehendem Wasser der »Kibugyanó-Quelle«.

119. *Gomphonema longiceps* EHR. Die Art ist auf den Fadenalgen, an den Stellen mit langsam fliessendem Wasser im Becken der »Kibugyanó-Quelle«

## Tafel III

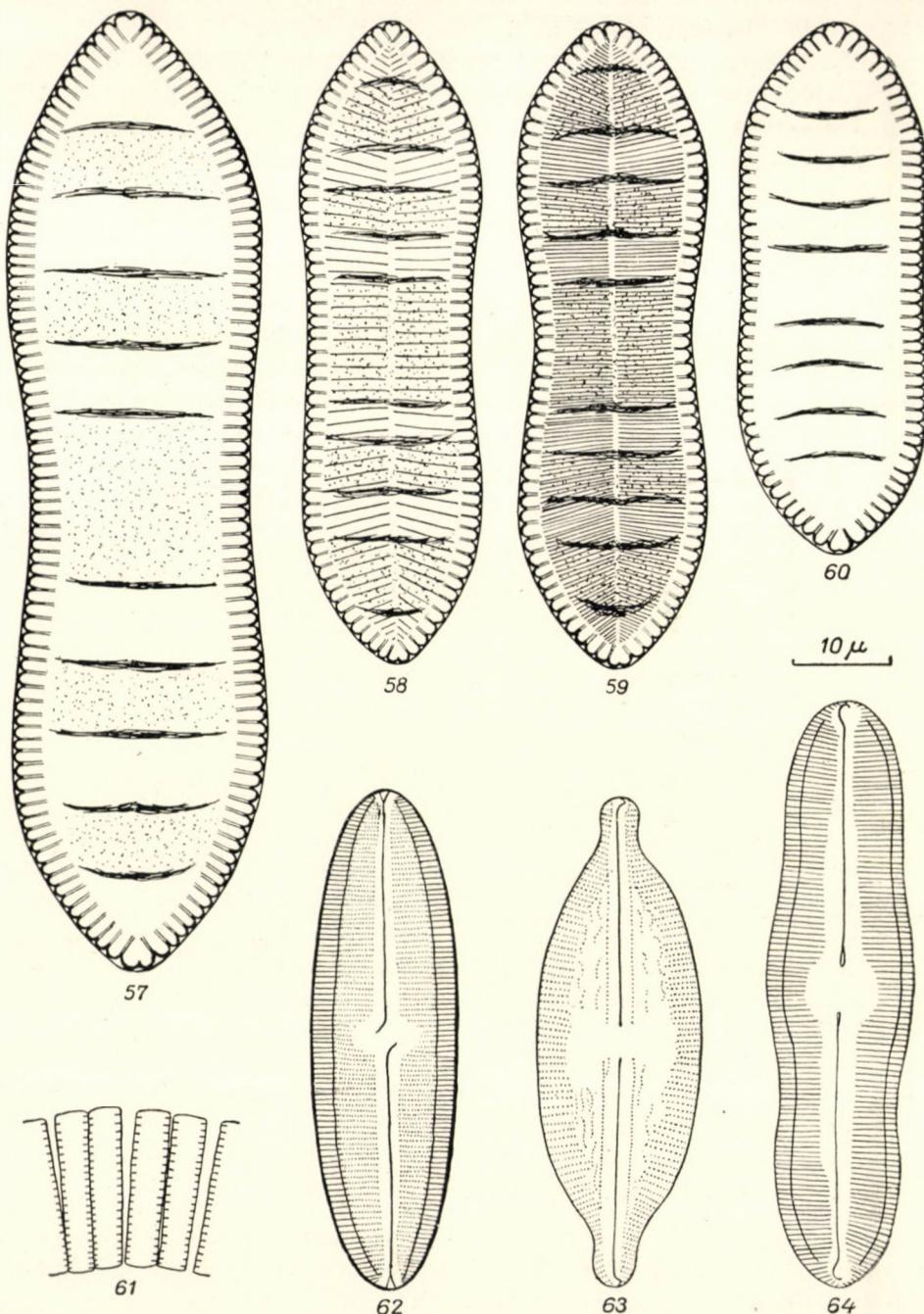


Abb. 57—60. *Cymatopleura solea* (BREB.) W. SMITH, 61. *Fragilaria*, 62. *Neidium iridis* f. *vernalis* REICHELT, 63. *Anomoeoneis sphaerophora* (KÜTZ.) PFITZER, 64. *Caloneis silicula* (EHR.) CLEVE

mit 0,75% vertreten. Auch an den strömungsfreien Stellen im Becken der »Mosó-Quelle« kommen einige wenige Exemplare vor.

120. *Gomphonema olivaceum* (LYNGBYE) KÜTZ. In dem Becken der »Mosó-Quelle«, in den strömungsfreien unteren Teilen mit 1,75% vorhanden, ebenda auf den Steinbänkchen, wo an Stellen mit langsam fliessendem Wasser die Häufigkeit auf 1% sinkt. Dieselben Werte können wir im Becken der »Teknős-Quelle«, an den strömungsgeschützten Stellen, an den Fadenalgen beobachten.

121. *Gomphonema olivaceum* var. *calcarea* CLEVE erreicht auf den Fadenalgen in Becken der »Kibugyanó-Quelle« an den Stellen mit langsam fliessendem Wasser 2,75%. Kommt vereinzelt auch im Becken der »Mosó-Quelle« vor.

122. *Gomphonema parvulum* (KÜTZ.) GRUNOW. Das Maximum der Art: 2%, ist in den strömungsgeschützten Teilen im Becken der »Mosó-Quelle« anzutreffen. Im schnell fliessenden Bachabschnitt der »Teknős-Quelle« beträgt das Vorkommen 1%, das sich ansonsten an den verschiedenen Stellen des

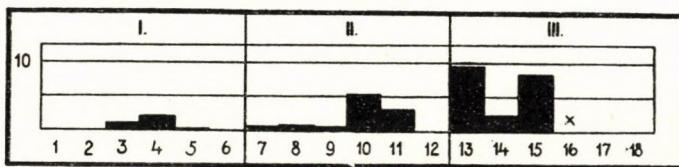


Abb. 17. *Gomphonema parvulum* var. *micropus* (KÜTZ.) CLEVE

Beckens durchschnittlich um 0,50% bewegt. An zwei Stellen ist die Art sporadisch.

123. *Gomphonema parvulum* var. *micropus* (KÜTZ.) CLEVE. Diese Varietät ist fast an allen Sammelstellen des Quellgebietes anzutreffen, doch fehlt sie vollständig im Überzug des Felsenbetts der rauschend strömenden Schnellen. Ihr Maximum von 9,50% erreicht sie auf den Fadenalgen im Becken der »Kibugyanó-Quelle«, an Stellen mit langsam fliessendem Wasser. An einer anderen Stelle ähnlichen Charakters erreicht sie 8,33%, aber in den in der Nähe liegenden kleinen Buchten mit schlammigem Grund beträgt sie nur mehr 2,36%. In der »Teknős-Quelle« auf den Ufersteinen des Quellbettes war das Maximum 5,33%, aber in den inneren Teilen desselben mit schneller strömendem Wasser betrug das Mass nur mehr 3%, in dem Becken selbst durchschnittlich unter 1%. Auf dem von uns untersuchten Gebiet konnte die kleinste Anzahl der Individuen in der »Mosó-Quelle« festgestellt werden. Hier auf den Steinbänkchen, an den Stellen mit langsam fliessendem Wasser betrug das Maximum nur 2,11%. Ebenda war im schnell fliessenden Wasser nur mehr ein sporadisches Vorkommen feststellbar, und zwar mit 0,30%, während es in den besser geschützten Teilen des Beckens 1% erreichte (Abb. 17).

124. *Denticula tenuis* KÜTZ. Die Art kam in quantitativ nachweisbarer Menge nur in der »Teknős-Quelle« vor. Höhere Maximalwerte waren jedoch

auch hier nicht zu beobachten. Am Uferstreifen der Quelle betrug die Häufigkeit 1,33%, in den inneren Teilen 3%, um im schnell strömenden Wasser des Quellausflusses wieder auf 1,20% zu sinken. Ein sporadisches Vorkommen war in derselben Quelle, an den vor der Strömung besser geschützten Stellen festzustellen.

125. *Denticula tenuis* var. *crassula* (NAEGELI) HUSTEDT. Die Häufigkeit der Varietät beträgt in den kleinen schlammigen Buchten der »Kibugyanó-Quelle« 1,33%, in der »Mosó-Quelle«, auf den Steinbänkchen mit langsamer-schneller fliessendem Wasser 0,80—1% (Tafel II/53—55).

126. *Epithemia intermedia* FRICKE. Einige Exemplare im Becken der »Teknós-Quelle« zwischen Fadenalgen.

127. *Epithemia Muelleri* FRICKE. Die Art kommt mit der vorigen sporadisch vor.

128. *Epithemia sorex* KÜTZ. Ihr Maximum (3%) fanden wir in der »Mosó-

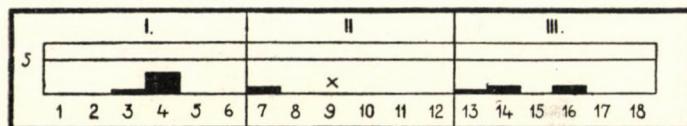


Abb. 18. *Epithenia sorex* KÜTZ.

Quelle«, auf den Steinbänkchen mit langsam fliessendem Wasser. Auf den Moosen der »Kibugyanó-Quelle«, in schnell fliessendem Wasser ergab sich 1,25%. In den kleinen Buchten mit Schlammgrund beobachteten wir eine ähnliche Häufigkeit, während diese im Becken selbst nur mehr 0,50% erreichte. Die Art bildet in der »Teknós-Quelle«, an den strömungsgeschützten Stellen, 1% des Benthos, ausserdem kam sie an einigen Orten vereinzelt vor (Abb. 18).

129. *Epithemia turgida* (EHR.) KÜTZ. Die Häufigkeit beträgt auf den Moosen in der Bucht der »Kibugyanó-Quelle«, an Stellen mit schnell fliessendem Wasser 1,50%. In dem Becken der »Teknós-Quelle« erreicht sie auf den strömungsgeschützten Gebieten 0,50%, an den ähnlichen Stellen der »Mosó-Quelle« 0,25%.

130. *Epithemia turgida* var. *granulata* (EHR.) GRUN. kommt nur sporadisch an 1—2 Stellen vor und konnte an keiner Stelle quantitativ nachgewiesen werden.

131. *Epithemia zebra* (EHR.) KÜTZ. Das Ergebnis auf den Fadenalgen im Becken der »Teknós-Quelle«, an den vor der Strömung besser geschützten Stellen war 0,50%, hingegen auf den Moosen in der Bucht der »Kibugyanó-Quelle«, in schnell fliessendem Wasser 0,75%.

Wie aus den vorangehend veröffentlichten Angaben hervorgeht, sind die Epitheme der Anzahl nach nur in sehr geringem Masse an der Ausbildung des Benthos beteiligt.

132. *Rhopalodia gibba* (EHR.) O. MÜLL. Im Becken der »Mosó-Quelle«, in den unteren, vor der Strömung geschützten Teilen konnten wir 0,50%, an mehreren Stellen ein sporadisches Vorkommen der Art feststellen.

133. *Rhopalodia gibba* var. *ventricosa* (EHR.) GRUN. Diese Varietät ist im Becken der »Teknős-Quelle«, auf den Fadenalgen in den vor der Strömung geschützten unteren Teilen sowie in den schlammigen kleinen Buchten der »Kibugyanó-Quelle« nur sporadisch.

134. *Hantzschia amphioxys* (EHR.) GRUN. Einige wenige Exemplare sind im Becken der »Teknős-Quelle« anzutreffen (Tafel II/39).

135. *Nitzschia amphibia* GRUNOW kommt auf den Fadenalgen im Becken der »Kibugyanó-Quelle«, in langsam fliessendem Wasser mit 7,75%, in den äusseren Buchten mit schlammigem Grund mit 4,43%, an mehreren Stellen sporadisch vor (Tafel II/40).

136. *Nitzschia capitellata* HUSTEDT ist an vielen Stellen findbar, doch höhere Maximalwerte traten nirgends in Erscheinung. Sie erreicht auf den Steinbänkchen der »Mosó-Quelle«, in langsam fliessendem Wasser 1,66%, in dem Moosbewuchs des Beckens 0,60%, in schnell fliessendem Wasser 0,30%. Ausserdem konnten wir noch an sechs Stellen des Quellgebietes ein sporadisches Vorkommen der Art feststellen.

137. *Nitzschia communis* GRUN. Die Art erreicht weder im Becken der »Kibugyanó-Quelle« noch auf den Steinbänkchen der »Mosó-Quelle« 1%.

138. *Nitzschia denticula* GRUN. Die Art kommt mit einer 3%igen Häufigkeit in den kleinen schlammigen Buchten der »Kibugyanó-Quelle« vor und ist ausserdem sporadisch an ganz wenigen Orten zu finden.

139. *Nitzschia denticula* var. *Delogenei* GRUN. Ganz wenige Exemplare im Becken der »Teknős-Quelle«.

140. *Nitzschia dissipata* (KÜTZ.) GRUN. kommt an mehreren Stellen sporadisch vor. Doch in den Buchten mit schlammigem Grund konnten wir 5% feststellen.

141. *Nitzschia fonticola* GRUN. Das Maximum von 6,66% beobachteten wir auf den Fadenalgen im Becken der »Kibugyanó-Quelle«, in langsam fliessendem Wasser. Ebenda ergab die Berechnung im Moosbewuchs auf der Wand des Quellbeckens 1,25%. An letztgenannter Stelle hat das Wasser eine schnellere Strömung. In der »Teknős-Quelle« erreicht die Häufigkeit auf den Moosen 0,50%, entlang den Ufern der Quellverzweigungen 1,66%, in den inneren Teilen 1,32%. Die Art kommt an mehreren Orten sporadisch vor.

142. *Nitzschia Kützingiana* RABH. mit einer Häufigkeit von 1,75% auf den Fadenalgen, in dem langsam fliessenden Wasser im Becken der »Kibugyanó-Quelle«.

143. *Nitzschia Kützingiana* HILSE. In der »Mosó-Quelle« beobachteten wir auf den Steinbänkchen mit langsam fliessendem Wasser 2,11%. In der Nähe kommt die Art an Stellen mit stärkerer Strömung sporadisch vor. An den

Rändern der Verzweigung der »Teknős-Quelle« beträgt das Ergebnis 1%, auf den Moosen im Becken 0,40%. An einigen Stellen kommt die Art sporadisch vor.

144. *Nitzschia linearis* W. SMITH. Das Maximum mit nur 2,66% ist in den schlammigen Buchten der »Kibuggyanó-Quelle« zu finden. An den Stellen mit langsam fliessendem Wasser beträgt das Ausmass im selben Becken 1,25%, in der »Mosó-Quelle« stellten wir auf den Steinbänkchen mit langsam fliessendem Wasser 1% fest. Im Becken der »Teknős-Quelle« kam die Art sporadisch vor.

145. *Nitzschia microcephala* GRUN. Einige wenige Exemplare kommen auf dem Steinbänkchen der »Mosó-Quelle« vor.

146. *Nitzschia palea* (KÜTZ.) W. SMITH kommt zusammen mit der vorigen Art vor. Die Häufigkeit schwankt zwischen 0,30—1%. Im Becken der »Kibuggyanó-Quelle« beobachteten wir ein sporadisches Vorkommen.

147. *Nitzschia recta* HANTZSCH. Ganz wenige Exemplare fanden wir in der »Kibuggyanó-Quelle«, in den kleinen Buchten mit schlammigem Grund und stehendem Wasser.

148. *Nitzschia romana* GRUN. kommt in dem den Grund des Beckens der »Teknős-Quelle« bedeckenden Moosbewuchs mit 0,30%, am Ufer der bachartigen Quellverzweigung entlang mit 0,66% vor.

149. *Nitzschia sinuata* (W. SMITH) GRUNOW. Die Häufigkeit der Art erreicht im unteren geschützten Teil des Beckens der »Mosó-Quelle« 1%.

150. *Nitzschia sinuata* var. *tabellaria* GRUN. Die Häufigkeit von 0,50% fanden wir auf den Fadenalgen im Becken der »Kibuggyanó-Quelle«, an Stellen mit ruhig fliessendem Wasser. Ein sporadisches Vorkommen beobachteten wir auf den Steinbänkchen der »Mosó-Quelle«.

151. *Nitzschia sublinearis* HUST. Die Art erreicht im Moosbewuchs, auf dem felsigen Grund der »Mosó-Quelle«, in strömendem Wasser 1%. — Sporadisch konnte die Art in den schlammigen Buchten der »Kibuggyanó-Quelle« beobachtet werden.

152. *Nitzschia thermalis* var. *minor* HILSE. Auf den Fadenalgen, im Becken der »Kibuggyanó-Quelle«, in langsam fliessendem Wasser zählten wir 2,25%. An anderen Stellen kam sie überhaupt nicht vor.

153. *Nitzschia tryblionella* var. *debilis* (ARNOTT) A. MAYER. Ein sporadisches Vorkommen konnte in schlammigen Quellbuchten festgestellt werden.

154. *Cymatopleura solea* (BREBISSON) W. SMITH. Die Häufigkeit von 0,66% wurde in der »Kibuggyanó-Quelle«, in den schlammigen Buchten mit stehendem Wasser beobachtet. Anderswo kam die Art auf dem Quellgebiet nicht vor (Tafel III/57—60).

## LITERATUR

1. BUDDE, H. (1928) Die Algenflora des Sauerländischen Gebirgsbaches. *Arch. Hydrobiol.*, **19**, 433—520.
2. BUDDE, H. (1935) Die Algenflora der Eder. *Arch. Hydrobiol.*, **28**.
3. BOROS, A. (1937) Magyarországi hévízek felsőbbrendű növényzete. Die höhere Pflanzenwelt ungarischer Thermen. *Bot. Közl.*, **34**, 85—118. (Ungarisch, deutsche Zusammenfassung.)
4. CHOLNOKY, B. (1931) Analytische Benthos-Untersuchungen. I—II. *Arch. Hydrobiol.*, **23**, 204—309.
5. CHOLNOKY, B. (1934) Analytische Benthos-Untersuchungen. III—IV. *Arch. Hydrobiol.*, **26**, 207—254.
6. CHOLNOKY, B. (1954) Ein Beitrag zur Algenflora des Mogolflusses in Nord-Transvaal. *Österr. Bot. Z.*, **101**, 118—139.
7. CLEVE-EULER, A. (1951—1955) Die Diatomeen von Schweden und Finnland. Teil 1—5, Stockholm.
- 7a. ENTZ, B., KOL, E., SEBESTYÉN, O., R. STILLER, J., TAMÁS, G., Varga, L. (1954) A Balatonba ömlő vizek fiziográfiai és biológiai vizsgálata. I. A Pécsely-patak. Physiological and biological investigation of the waters flowing into lake Balaton. I. The Pécsely brook. *Ann. Biol. Tihany*, **22**, 61—183. (Ungarisch, englische Zusammenfassung.)
8. GEßNER, FT. (1955) Hydrobotanik, Berlin.
9. HUBER-PESTALOZZI, G. (1942) Das Phytoplankton des Süsswassers. **2/2**. Stuttgart.
10. HUSTEDT, FR. (1927—1937) Die Kieselalgen Deutschlands, Österreichs und der Schweiz mit Berücksichtigung der übrigen Länder Europas sowie der angrenzenden Meeresgebiete. In RABENHORST *Kryptogamenflora*, **7**, Leipzig.
11. HUSTEDT, FR. (1930) Bacillariophyta. In PASCHER, A. *Süsswasserflora von Mitteleuropa*, **10**, 1—446. Jena.
12. HUSTEDT, FR. (1938—1939) Systematische und ökologische Untersuchungen über die Diatomeenflora von Java, Bali und Sumatra. *Arch. Hydrobiol. Suppl.*, **15**, 187—295; 393—506; 603—790. *Suppl.*, **16**, 1—394.
13. HUSTEDT, FR. (1945) Diatomeen aus Seen und Quellgebieten der Balkanhalbinsel. *Arch. Hydrobiol.*, **40**.
14. JASKÓ, S. (1935) A Pápai Bakony hidrológiája. Die Hydrologie des Bakony-Gebirges bei Pápa. *Hidrológiai Közl.*, **15**, 205—212. (Ungarisch, deutsche Zusammenfassung.)
15. KESSLER, H. (1952) Unveröffentlichte Resultate.
16. KOLBE, R. W. (1927) Zur Ökologie, Morphologie und Systematik der Brackwasser-Diatomeen. Die Kieselalgen des Sperenberger Salzgebietes. *Pflanzenforschung* (7), 1—146.
17. KOLBE, R. W. (1932) Grundlinien einer allgemeinen Ökologie der Diatomeen. *Erg. Biol.*, **8**, 222—367.
18. PATRICK, R. (1948) Factors effecting the distribution of Diatoms. *Bot. Rev.*, **14**, 473—524.
19. RAABE, H. (1951) Die Diatomeenflora der ostholsteinischen Fliessgewässer. *Arch. Hydrobiol.*, **44**, 521—638.
20. SCHEELE, M. (1952) Systematisch-ökologische Untersuchungen über die Diatomeenflora der Fulda. *Arch. Hydrobiol.*, **46**, 305—423.
21. SZEMES, G. (1947) A Zagyva folyó Bacillariophyta-flórájának ökológiai vizsgálata. Ökologische Untersuchungen über die Bacillariophyten-Flora des Zagyva Flusses. *Borbásia*, **7**, 70—121. (Ungarisch, deutsche Zusammenfassung.)
22. SZEMES, G. (1948) A Zagyva folyó kovamosatainak elterjedése a forrástól a torkolatig. Die Verbreitung der Bacillariophyten des Zagyva Flusses von der Quelle bis zur Mündung. *Borbásia*, **8**, 89—113. (Ungarisch, deutsche Zusammenfassung.)
23. SZEMES, G. (1951) Der Einfluss der Lichtverhältnisse auf die Ausbildung der Tiefenbiocoenosen. *Acta Biol. Hung.*, **1**, 371—400.
24. RUTTNER, FR. (1952) Grundriss der Limnologie. Berlin.
25. THOMASSON, A. (1926) Methoden zur Untersuchung der Mikrophyten der limnischen Litoral- und Profundalzone. In ABDERHALDEN, A. *Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden*. **9/2**, 681—712.
26. WEHRLE, E. (1942) Algen in Gebirgsbächen am Südostrand des Schwarzwaldes. *Beitr. naturkundl. Forsch. Oberrhein gebiet*, **7**.

КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ ДИАТОМОВОГО БЕНТОСА  
ИЗ ИСТОЧНИКОВ В ТАПОЛЬЦАФЕ

На западном краю гор Баконь, на известняковых карстовых склонах Тапольцафे из естественных скалистых бассейнов пробиваются полноводные источники. Стены этих

бассейнов покрыты водорослями. Дебит, температура и химический состав источников постоянные, их бентос тоже отличается стабильностью.

Наблюдаются углки без течения, небольшие бухточки, боковые стены, омытые медленным водотоком, окраины, подвергнутые быстрому течению, быстрые клокочущие ключи и т. д. одни около других, в одном и том же бассейне. Состав бентоса в этих местах с отличающейся экологией — различен. На местах же одинакового типа различных ключевых бассейнов, бентос имеет также одинаковый характер.

О богатстве видов карстовых источников в Таполыцафё свидетельствуют 154 вида и разновидности *Bacillariophycea* обнаруженных в трех бассейнах. Распределение видов по отдельным частям ключевого бассейна определяется главным образом различной скоростью водотока.

Бентос клокочущих ключей и быстрых выходов источников, создающих экстремальные экологические условия, бедный видами (7—13—18). — *Achnanthes minutissima* KÜTZ., *A. minutissima* var. *cryptocephala* GRUN., *Cymbella affinis* KÜTZ., *Achnanthes exilis* KÜTZ., *A. Clevei* GRUN., являются самыми характерными представителями бентоса выходов источников с быстрым течением. Сама *A. minutis imá* и ее разновидности наблюдаются в массовой вегетации, даже в 99—100%. Бентос мест с наибыстрым течением отличается небольшим числом видов при множестве особей.

В противоположность клокочущим ключам и областям с весьма быстрым течением, которые бедны видами, защищенные от течения места бассейнов, бухты, отличаются большим количеством видов при меньшем количестве особей отдельных видов. Более часто встречающимися видами являются: *Fragilaria pinnata* EHR., *Fr. intermedia* GRUN., *Achnanthes lanceolata* var. *rostrata* HUST., *A. lanceolata* BRÉB., *Cymbella microcephala* GRUN., *Amphora perpusilla* GRUN., *Navicula dicephala* (EHR.) W. SMITH.

Показатели относительной частоты видов свидетельствуют о том, что в пределах отдельных ключевых бассейнов различная степень быстроты течения воды играет важную роль в определении состава и распределения видов бентоса.

#### QUANTITATIVE ANALYSIS OF THE BENTHIC BACILLARIOPHYCEA OF SOURCE BEDS AT TAPOLCAFÓ

On the western border of the Bakony mountains, on the carstic limestone slopes of Tapolcafó abundant springs well forth from natural rock basins. The walls of the basins are covered by thick layers of algae. The water yield, the temperature, as well as the chemical composition of the sources are constant. Stability characterizes also its benthos.

Current-free nooks, small creeks, side walls washed by slow water courses, borders, exposed to currents, rapids, etc. are to be found within the same basin in the vicinity of each other. The composition of the benthos varies according to the different ecology of these sites. On the other hand, on the territories of identical type of the different basins also the benthos shows an identical character.

The abundance in species of the carstic territory of the sources of Tapolcafó is illustrated by the fact that in three basins 154 species and varieties of Bacillariophycea came to light. The distribution of the species is determined by the difference in the degree of the water speed.

The benthos of the rapids and of the outflows of swift sources where life conditions are extreme, is poor in species (7—13—18) — *Achnanthes minutissima* KÜTZ., *A. minutissima* var. *cryptocephala* GRUN., *Cymbella affinis* KÜTZ., *Achnanthes exilis* KÜTZ., *A. Clevei* GRUN. are the most characteristic members of the outflows of the swift waters. *A. minutissima* and its varieties occur in mass culture with a frequency of even 90—100 per cent. The benthos of the places with the swiftest current are characterized by the small number of species and the large number of individuals.

In contrast to the scantiness in species of the rapids and the territories with very swift currents, the current-free, more sheltered areas of the basins are characterized by the large number of species and the smaller quantitative occurrence of the single species. The most common species are: *Fragilaria pinnata* EHR., *Fr. intermedia* GRUN., *Achnanthes lanceolata* var. *rostrata* HUST., *A. lanceolata* BRÉB., *Cymbella microcephala* GRUN., *Amphora perpusilla* GRUN., *Navicula dicephala* (EHR.) W. SMITH, etc.

The relative frequency values of the species show that the varying intensity of the water current within the territory of each source basin plays an important role in the selection and distribution of the species of the benthos.

GÁBOR SZEMES, Budapest VIII., Illés u. 25, Ungarn.



# HISTOGENETISCHE UNTERSUCHUNGEN AM SPROSSVEGETATIONSKEGEL DER WEINREBE

Á. HEGEDÜS

FORSCHUNGSIINSTITUT FÜR AMPELOLOGIE, BUDAPEST (DIREKTOR: I. SOÓS)

(Eingegangen am 10. August 1955)

## Zusammenfassung

In den untersuchten, etwa 7 mm langen, 8—9 Blattanlagen tragenden Sprossvegetationskegeln spielt sich die Entwicklung der Organe so wie auch die Abgrenzung der einzelnen Meristemzonen und ihre Determination ab. Vollkommen ausgebildete Gewebe werden nur in sehr kleinen Mengen, im Xylem und im Phloem stabil. Das Längewachstum und die Ausgestaltung der Dauer gewebe setzen erst nachher ein. Der Differenzierungsgang der Meristeme kann in folgendem zusammengefasst werden: im Meristem des Vegetationskegels lässt sich schon die Aussen schicht abgrenzen, aus welcher sich später das Protoderm und die Epidermis entwickeln. Dementsprechend ist bei der Weinrebe das Protoderm das am ehesten abgegrenzte Meristem des Vegetationskegels. Die übrigen Teile des Urmeristems entwickeln sich bei kontinuierlichem Ansteigen der zytokaren Verhältniszahl zu einem Übergangsmeristem, in welchem dann die ersten prokambialen Bündel erscheinen. In der Mittellinie der Sprossachse verläuft die Differenzierung in akropetaler Richtung, am Rande aber geht sie von der dorsalen Seite des Ansatzes der einzelnen Blattanlagen aus, weswegen sich das Übergangsmeristem auf einen, im Querschnitt ringförmigen Zylindermantel beschränkt. Dieser Ring definiert die Stelle des sich später ausbildenden Leitungssystems, und dadurch findet in der Sprossachse die Abgrenzung der Grundmeristeme von Mark und Rinde gleichfalls statt. In den Blattanlagen verläuft die Entwicklung der Dauer gewebe von der dorsalen Seite des Ansatzes in adaxialer, lateraler und akropetaler Richtung. Hier entsteht zuerst der axiale Teil (Stiel und Mittelnerv) und von hier aus geht dann die Ausbildung der Nervatur der Blattspreite in lateraler Richtung vor sich. Die übrigen Teile der Spreite entstehen durch interkalares Wachstum. In der Blattspreite grenzt sich das Meristem des Palisaden- und Schwammparenchys sehr früh, schon in der 5-ten Blattanlage ab. Im Blatt stiel und in den ventralen grösseren Nerven entwickelt sich das Prokambium der Gefäßbündel später, durch perikline Teilungen. Im Ring des Übergangsmeristems schalten sich, die Entwicklung der Blattprimordien begleitend, immer neue prokambiale Bündel ein und auch die bereits vorhandenen können sich auf Kosten des Übergangsmeristems weiter entwickeln. Die Möglichkeit der Ausbildung von immer neuen Prokambiumbündeln besteht solange, bis ein Übergangsmeristem vorhanden ist. Sobald die Prokambiumbündel vollzählig geworden sind (im Stengel der Weinrebe bei etwa 40), geht das restliche Übergangsmeristem ins Grund meristem über und aus diesem letzteren entstehen die primären Markstrahlen des Stengels. Die Entwicklung der Prokambiumbündel beginnt in der Basis der Blattanlagen und schreitet nach unten in den Stengel und nach oben in das Blatt fort (sogenannter basipetaler Entwicklungs vorgang). — Die Umwandlung der ersten Protoxylelemente in Dauergewebe geht auch von der Basis der Blattanlagen aus und verläuft von dort aus aufwärts im Blatt und abwärts im Stengel.

Hervorgehoben seien hier noch als neue Feststellungen die Gestaltung der zytokaren Verhältniszahl im Meristem der Weinrebe, die Bedeutung der verschiedenen eiweißführenden Zellen, die frühzeitige Absonderung des Diaphragmameristems vom Markmeristem und die neuesten Entwicklungsgeschichtlichen Beweise für die dorsiventrale Struktur des Weinreben sprosses.

## Einleitung

Über die Weinrebe (*Vitis vinifera* L.) besitzen wir eine verhältnismässig reichhaltige histologische Literatur, auf Grund welcher mehrere ampelologische Fachwerke [2, 14, 15, 22] umfassende Beschreibungen über die Struktur sämtlicher Teile des Weinstockes bringen. Ein Werk über die Histogenetik der Weinrebe lässt sich aber kaum finden und unseres Wissens hat sich bis jetzt noch kein einziger Forscher mit den sich im Vegetationskegel abspielenden Differenzierungsvorgängen beschäftigt. Dies gab den Anlass, die Frage zum Gegenstand unserer Untersuchungen zu wählen.

Die histologische Untersuchung des Vegetationskegels ist darum von höchstem Interesse, weil sich hier diejenigen Meristeme befinden, aus welchen sich der ganze Spross entwickeln wird. Mögen sich die beabsichtigten Forschungen auf die Blüten- oder auf die Fruchtentwicklung erstrecken, eventuell Fragen der Holzreife umfassen, der Ausgangspunkt der Untersuchungen muss in jedem Fall der Vegetationskegel sein. Unsere Untersuchungen wurden an fixierten Vegetationskegeln von der Art »Ezerjó«, im Zeitpunkt des kräftigen Sprosswachstums (April—Mai 1952), durchgeführt. Zu dieser Zeit bildete sich in 2—3 Tagen eine neue Primordium und die Sprosse wuchsen täglich 3—4 cm.

Aus dem in der BOUIN—ALLEN'schen Lösung fixierten und in Paraffin eingebetteten Untersuchungsmaterial wurden 10  $\mu$  starke Schnitte hergestellt und in Hämatoxylin und Safranin gefärbt.

Wie aus den Schnitten ersichtlich ist, weist der Vegetationskegel der Weintraube in grossen Zügen die die Dikotyledonen kennzeichnende Struktur auf. Der Achsenteil des Kegels verjüngt sich allmählich nach oben und endigt in einem flachen Hügelchen. Am Achsenteil ordnen sich in zwei gegenständigen Reihen die Blatt-, die Achselknospen- und die Rankenanlagen an. Von der Triebspitze nach unten zu werden die Blattanlagen immer grösser und stärker entwickelt. Ihre allmähliche Vergrösserung geht rapid vor sich und steht mit dem schnellen Wachstum des Sprosses im Zusammenhang. Gegenüber den Blattanlagen (ausser jeder dritten Anlage) sind Rankenanlagen vorhanden. Im Entwicklungsprozess der Rankenanlagen konnte der Beweis für das sympodialle Sprosswachstum nicht erbracht werden. Zum selben Ergebnis kamen auch NÄGELI und SCHWENDENER [5], während nach BARANOW [2] das sympodialle Wachstum im Vegetationskegel erkennbar ist. Der Weinrebenspross weist eine dorsiventrale Symmetrie auf. An der Sprossachse lassen sich 4 Seiten unterscheiden: zwei gegenständige Seiten, an welchen sich die lateralen Organe befinden, die rechte und die linke Seite genannt. Die beiden restlichen, gleichfalls gegenständigen Seiten sind nicht gleichwertig und werden als dorsale und ventrale Seite voneinander unterschieden. In der ventralen Seite geht die Entwicklung der Gewebe kräftiger vor sich, doch ist in der dorsalen Seite anfangs das Längenwachstum schneller, so dass sich der Vegetationskegel nach der

ventralen Seite hin zurückbiegt. Die Dorsiventralität kommt in der Struktur des Vegetationskegels ebenfalls zum Ausdruck: das Nebenblatt der dorsalen Seite ist grösser und die Schuppe der Blattachselknospen findet sich stets an der ventralen Seite vor.

### Die für die Differenzierung kennzeichnenden Veränderungen

Im Anfangsstadium der Differenzierung lassen sich die Veränderungen der Meristeme des Sprossvegetationskegels in erster Linie mit Hilfe der zytokaren Verhältniszahl nachweisen. Die späteren, fortgeschrittenen Phasen der Differenzierung können durch das Erscheinen der Eiweiss- und Kristallzellen, der Haare, des Prokambiums und der ersten Leitungselemente, sodann durch kennzeichnende Zellteilungs- und Wachstumsprozesse charakterisiert werden.

Von der zytokaren Verhältniszahl konnte in anderen Pflanzen (*Asarum*, *Lycium*, *Stratiotes*) bewiesen werden, dass diese für die einzelnen Meristemtypen kennzeichnend ist [7, 8, 9, 10]. Es sei hier gleich erwähnt, dass Verfasser die zytokare Verhältniszahl ganz selbstständig, aus eigener Initiative zur Anwendung gebracht hat. Es wurde jedoch später bekannt, dass VARGA dem Verfasser auf diesem Gebiet zuvorgekommen war [21]. Er wendete jedoch das Zahlenverhältnis zwischen dem Zelldurchmesser und Zellkerndurchmesser lediglich bei der Charakterisierung der Alterung der Markzellen an, und zwar ausschliesslich in der Streckenwachstumperiode des Sprosses; seine Untersuchungen erstreckten sich demnach nie auf den Vegetationskegel.

Die Ermittlung der zytokaren Verhältniszahl geschieht folgendermassen: es werden für Zelle wie auch für Zellkern zwei senkrecht aufeinander stehende Durchmesser gemessen, und die Summe der zwei aufeinander senkrecht stehenden Durchmesser der Zelle wird durch die der zwei Durchmesser des Zellkerns geteilt. Der erhaltene Wert steigt im Verlauf der Differenzierung vom Urmeristem zum Dauergewebe stetig an und eignet sich infolgedessen zur Beurteilung der verschiedenen Differenzierungsstufen. Mehrere hundert, am Sprosskegel der Weinrebe durchgeföhrte Messungen haben bewiesen, dass die erwähnte Gesetzmässigkeit auch hier Gültigkeit hat. In mehreren, vom Verfasser früher veröffentlichten Arbeiten wurde wiederholt darauf hingewiesen, dass es notwendig erscheint, zur genauen Beschreibung des sich im Sprosskegel abspielenden Differenzierungsvorganges einen neuen Meristemtyp zwischen das Urmeristem und die aus demselben sich entwickelnden Meristemen einzugliedern. Es ist das Übergangsmeristem, welches durch Anwendung der zytokaren Verhältniszahl und an Hand eingehender Beobachtung der Differenzierungsvorgänge deutlich erkennbar wird. In der Weinrebe ergeben sich für die verschiedenen Meristemtypen folgende zytokare Verhältniszahlen:

Urmeristem .....	1,40—1,80
Übergangsmeristem .....	1,80—2,00
Grundmeristem .....	2,00—4,00

Diese Werte entstanden aus den an Längsschnitten durchgeföhrten Messungen. Im Querschnitt lässt sich eine geringe Verschiebung der Grenze zwischen Urmeristem und Übergangsmeristem beobachten. Dementsprechend ergeben sich im Querschnitt folgende Grenzwerte :

Urmeristem.....	1,30—1,70
Übergangsmeristem .....	1,70—2,00
Grundmeristem .....	2,00—4,00

Die Zugehörigkeit der einzelnen Meristemzonen lässt sich auf der Weise ermitteln, dass 10—20 Zellen gemessen und der Mittelwert der errechneten zytokaren Verhältniszahlen bestimmt wird. Der so erhaltene Wert veranschaulicht mit Sicherheit den Differenzierungsgrad der betreffenden Meristemzone.

In den einzelnen Meristemtypen schwanken die zytokaren Verhältniszahlen (ermittelt auf Grund von Messungen im Längsschnitt von je 30 Zellen) zwischen folgenden Grenzen (Tabelle 1).

Tabelle 1

Gewebe	Verhältniszahl je einer Zelle	Mittelwert von je 5 Zellen	Mittelwert sämtlicher Messungen
Urmeristem .....	1,23 — 2,00	1,39 — 1,68	1,54
Übergangsmeristem.	1,66 — 2,32	1,80 — 1,98	1,89
Grundmeristem ....	1,75 — 4,00	2,12 — 3,31	2,80

Das Ergebnis weiterer Messungen blieb gleichfalls in obigen Grenzen. Der Mittelwert von an mindestens 5 Zellen durchgeföhrten Messungen entsprach immer dem auf Grund seiner Lage bestimmten Charakter des Meristems.

Von den charakteristischen Zelltypen sind Schleim und Kalziumoxalat-Raphidbündel enthaltende Kristallzellen in der Weinrebe schon seit langem bekannt. Einen anderen Typ stellen die eiweißführenden Zellen dar. In der Epidermis, im Grundgewebe und im Phloem der verschiedenen Organe der Weinrebe kommen Zellen vor, deren Vakuole einen eiweißhaltigen Zellsaft enthält. In aus frischem Material verfertigten Präparaten unterscheiden sich diese Zellen in keiner Weise von ihrer Umgebung. Nach der Fixierung oder nach Behandlung mit Jod-Jodkalium schlägt der Inhalt der Vakuole für jede Zellart kennzeichnend aus. Der Niederschlag kann ganz homogen, feinkörnig oder grobkörnig sein und je nachdem, ob die Zelle eine grosse oder mehrere kleine

Vakuolen enthält, wird derselbe beinahe den ganzen Zellraum ausfüllen oder zu mehreren grösseren Granula zusammenreten. Im letzteren Falle sind die Granula im allgemeinen stark strahlenbrechend (z. B. im Protoderm). In allen Fällen kennzeichnen sich die Eiweisszellen dadurch, dass sich ihr Inhalt mit Safranin leuchtendrot färbt; sie lassen sich also durch unsere Färbungsmethode von den restlichen Zellen deutlich unterscheiden. — Je nach der Erscheinungsform des Zellinhaltes kann von kompakten, körnigen und granularen eiweissführenden Zellen gesprochen werden.

### Beschreibung der Differenzierungsvorgänge

Nach obiger Einleitung wären nun die Struktur des Vegetationskegels und die sich in demselben abspielenden Differenzierungsvorgänge zu untersuchen. Die jüngsten, am spätesten entwickelten und zu gleicher Zeit am wenigsten differenzierten Gewebe befinden sich stets im Sprossvegetationspunkt. Von hier nach unten schreitend kommen immer ältere und damit verbunden, differenziertere Gewebe vor. Im wachsenden Vegetationskegel wiederholen sich rhythmisch vollkommen gleichartige Entwicklungsvorgänge, so dass vom Vegetationspunkt ausgehend, die sich gegenseitig entsprechenden Gewebezonen jeweils eine höher entwickelte Stufe desselben Entwicklungsvorganges vertreten; folglich wird bei der Beobachtung der Schnitte gewissermassen die räumliche Projektion des zeitlichen Entwicklungsvorganges erkennbar sein. Wie schon erwähnt, bildet sich eine Blattprimordie in etwa 2—3 Tagen aus, also kann auf Grund der Blattanlagen das Alter der einzelnen Gewebezonen in grossen Zügen bestimmt werden. Obwohl die Entwicklung der Sprossachse nicht von der der einzelnen Blattanlagen getrennt werden kann, wird sie im Interesse der besseren Verständlichkeit dennoch gesondert behandelt.

### *Die Differenzierung der Sprossachse*

Der Vegetationspunkt der Sprossachse ist ein etwa  $150\text{ }\mu$  breites und  $50\text{--}60\text{ }\mu$  hohes Hügelchen. Dieses Hügelchen besteht aus Urmeristem, d. h. aus einem homogenen Meristem, in welchem sich Zellteilungsvorgänge abspielen, Differenzierungsvorgänge aber nicht erkennbar sind. Die Richtung der Teilungen ermöglicht dennoch die Umgrenzung von zwei Zonen im Urmeristem des Vegetationskegels, und zwar die der einschichtigen Aussenhaut, die sich ausschliesslich senkrecht zur Oberfläche (antiklin) teilt und die der inneren Meristemmasse, deren Zellen sich nach allen Richtungen hin teilen. Die Aussenhaut ist nichts anderes als das Protoderm, aus welchem sich später die Epidermis des Sprosses entwickeln wird. Verfasser vertritt die Ansicht, dass es nicht notwendig ist die beiden Gewebezonen als Tunika und Korpus zu bezeichnen, da mit der weiteren Gewebesendenz nur dann ein Zusammenhang besteht, wenn die Aussenhaut

einschichtig ist, in welchem Falle sie dann Protoderm genannt wird. Es sei hier noch erwähnt, dass die Kontinuität der Oberflächenzellschicht an der Stelle des obersten Primordienansatzes eine Unterbrechung erfährt (Abb. 1); diese Tatsache spricht gleichfalls dafür, dass eine besondere Bezeichnung nicht begründet ist. Am Basalteil des Hügelchens erscheint das oberste Blattprimordium. Hier besteht der äussere Achsenteil weiterhin aus Urmeristem, im mittleren Teil überschreitet aber die zytoplasmatische Verhältniszahl der Zellen schon den Wert von 1,6—1,8, sie gehen also ins Übergangsmeristem über. Gleichzeitig treten hier die ersten körnigen eiweissführenden Zellen auf. Zwischen der ersten und zweiten Blattanlage gestaltet sich auch der äussere Achsenteil in ein Übergangsmeristem um, während zwischen den beiden, sich schon differenzierenden Zonen das Urmeristem ringförmig bestehen bleibt. In der Höhe der zweiten Blattanlage besteht auch schon dieser Ring aus Übergangsmeristem, doch sondert sich dieses schroff von den äusseren und inneren Teilen ab, da die zytoplasmatische Verhältniszahl dieser beiden letzteren weiter ansteigt. Die prokambiale Differenzierung setzt ebenfalls hier ein: in Richtung der ersten Blattanlage entsteht ein Prokambiumbündel, fünf weitere bilden sich in Richtung der zweiten Blattanlage, und insfern gegenüber der letzteren eine Rankenanlage vorhanden ist, auch in dieser Richtung zwei Prokambiumbündel. Auf dieser Weise lassen sich unter der zweiten Blattanlage, im Ring des Übergangsmeristems eingebettet, 6—8 Prokambiumbündel beobachten (Abb. 5). Unter dem Gebiet der zweiten Blattanlage weist das Rinden- und Markmeristem schon den Charakter des Grundmeristems auf; hier schwankt die zytoplasmatische Verhältniszahl zwischen 2,2 und 2,4. — Kaum sind die ersten Prokambiumbündel ausgebildet, da setzt, häufig schon im Ansatz des medianen Bündels der zweiten Blattanlage, die Differenzierung des ersten Protoxylelementes ein. Doch weist dieses Protoxylelement weder aufwärts noch abwärts eine Fortsetzung auf. Am Basalteil der dritten Blattanlage fügen sich wieder neue Prokambiumbündel in den schon bestehenden Bündelkreis ein; im mittleren fängt die Differenzierung des Protoxylems gleichfalls an, sie schreitet aber nur auf eine geringe Strecke vor. In der Höhe des dritten Primordiums vollzieht sich im Markmeristem die Absonderung des nodalen Gebietes, aus welchem sich das Diaphragma bildet, vom internodialen Gebiet, welches später ins Markgewebe übergehen wird. Vorläufig ist in der Form, Grösse und Anordnung der Zellen kein auffallender Unterschied zu beobachten, doch ist die Trennung dadurch ermöglicht, dass in den internodialen Teilen granulare eiweissführende Zellen nur sporadisch vorhanden sind, während sie im nodalen Gebiet zahlreich auftreten (Abb. 3). Von dem dritten Primordium nach unten zu, tritt in der zytoplasmatischen Verhältniszahl der einzelnen Geweberegionen lange Zeit keine wesentliche Verschiebung ein (die späteren Veränderungen sind anderer Natur). Im Gebiet der dritten Blattanlage erscheinen die Eiweissvakuolen auch in den Zellen der subprotodermalen Schicht, welche sich also gleichfalls immer mehr in eine granulare eiweissführende Schicht umgestaltet

Häufig werden Prokambiumbündel von eiweissführenden Zellen begleitet, während von dem vierten Blattprimordium an, selbst in den Prokambiumbündeln, kompakte eiweissführende Zellen festzustellen sind; ihre Entwicklung scheint mit der Differenzierung des Protophloems verbunden zu sein. In dieser Zone kommen selbst im Markmeristem kompakte Eiweisszellen vor.

Im Gebiet der vierten Blattanlage fügen sich neue Prokambiumbündel ein. Auch hier kommt Protoxylem nur im medianen Bündel vor, doch dieses setzt sich jetzt schon nach unten, durch die weiteren Internodien fort. Die Verschmelzung einiger Prokambiumbündel setzt hier ein, da die Zahl der Stränge in der Sprossachse nicht unbegrenzt erhöht werden kann. In der Zone des fünften Blattprimordiums enthalten schon vier Prokambiumbündel Protoxylem; die Anzahl jener Prokambiumbündel, in welchen die Differenzierung der Leitgewebe begonnen hat, steigt also allmählich abwärts. Von der Zone des vierten Blattprimordiums herab, erfolgt im Markmeristem eine erneute Veränderung. Im internodialen Teil kommt es, ausschliesslich in Querrichtung, zu einer kräftigen Teilung, und als deren Folge wird ein scharfer Unterschied zwischen dem Meristem des Diaphragmas und dem des Markes erkennbar. Infolge der raschen Teilung entwickeln sich im Markmeristem aus in Querrichtung abgeplatteten Zellen Längsreihen, während zu gleicher Zeit die Zellen des Diaphragmas ihre mehr oder minder isodiametrische Form beibehalten. Die Teilung erstreckt sich auch auf die eiweissführenden Zellen, infolgedessen sich auch diese Elemente vom vierten Internodium ausgehend in Längsreihen anordnen (Abb. 4). Die Zone der lebhaften Querteilung umfasst mehrere Internodien. Schon in dieser Zone fängt die langsam fortschreitende Streckung der Internodien an, doch ist dieser Vorgang lediglich die Vorbereitung zur kräftigen Streckung, welche etwa im Gebiet des 10. Internodiums einsetzen wird.

Im Gebiet zwischen dem 8. und 9. Blattprimordium (von der Spitze ausgehend gerechnet), im Gebiet also, welches in die Zone der kräftigen Querteilung fällt, sind im Querschnitt des jungen Stengels 35 Prokambiumbündel zu beobachten; in 20 Bündeln hat die Ausbildung des Protoxylems schon begonnen. Die Umgrenzung der einzelnen Gewebezonen hat sich in vollem Masse vollzogen. Weitere Prokambiumbündel fügen sich nur stellenweise ein. Die Umbildung der Meristeme in Dauergewebe ist jedoch nur wenig fortgeschritten. In einigen Prokambiumbündeln treten Protoxylem- und Protophloemelemente auf. Andere Dauergewebe sind in diesem Gebiet nicht zu verzeichnen.

Nachdem die Richtung der Prokambiumausbildung in der neuesten Literatur Anlass zu einer lebhaften Polemik gegeben hat, wurde dieser Frage vom Verfasser besondere Aufmerksamkeit gewidmet. Aus mehreren Vegetationskegeln wurden vollzählige Längsschnittserien hergestellt, um an ihnen die Entwicklungsrichtung des Prokambiums zu bestimmen. Durch einen glücklichen Zufall befand sich von zwei Vegetationskegeln der eine genau in dem Entwicklungsstadium, welches einem mehr fortgeschrittenen Stadium des zweiten ent-

sprach; infolgedessen gestaltete sich das Studium der beiden Kegel besonders lehrreich. Abb. 1 veranschaulicht den Längsschnitt der beiden Vegetationskegel. Die Lage der Prokambiumbündel wurde nach der Überprüfung des vollkommenen Schnittbandes in die Abbildung eingezeichnet. Aus Abb. 1A, welche den früheren Entwicklungsstand darstellt, geht hervor, dass sich die Prokambiumbündel der beiden obersten Blattanlagen unabhängig vom prokambialen System der unteren Teile des Vegetationskegels entwickeln. Aus Abb. 1 B, welche den späteren Entwicklungsstand veranschaulicht, ist dagegen ersichtlich, dass die Prokambiumbündel im Vegetationskegel ein zusammenhängendes System bilden;

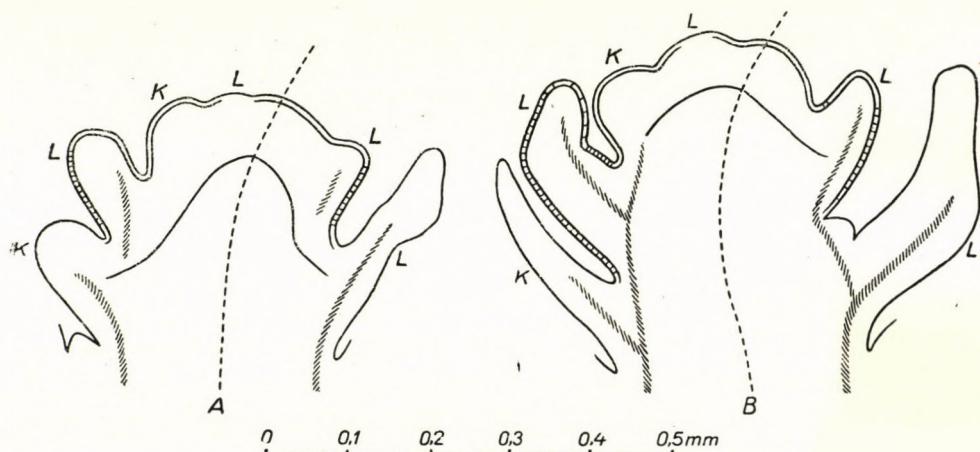


Abb. 1. Längsschnittskizzen des wachsenden Sprossvegetationskegels von der Rebensorte *Leányka*. Hervorgehoben die Grenze des Protoderms und des Übergangsmeristems und der Verlauf der Prokambiumbündel. Die gestrichelte Linie zeigt die Achsenlinie des Vegetationskegels. Die gestrichelten Teile des Protoderms weisen auf eisweissführende Zellen. L = Blattanlage, K = Rankenanlage

es bestehen also keine Anzeichen für eine basipetale Entwicklung des Prokambiums. Gleichzeitig lässt sich auch beobachten, dass sich in Richtung der schon in Entwicklung übergegangenen nächsten Blattanlage noch kein Prokambium ausgestaltet hat. Nach dem in Abb. 1 A veranschaulichten Stand ist die basipetale Entwicklung des Prokambiums also offensichtlich, nach Abb. 1B aber nicht. Dies lässt sich damit erklären, dass sich im zweiten Stadium die im Ansatz der Blattprimordien ausgestalteten Prokambiumbündel durch basipetale Entwicklung schon in das bereits bestehende Bündelsystem eingefügt haben, während sich in Richtung der neuesten Blattanlagen noch überhaupt kein Prokambium gebildet hat. Demnach lässt sich feststellen, dass die Entwicklung des Markmeristems im Vegetationskegel der Weintraube in akropetaler, die des Prokambiums zusammen mit dem Rindenmeristem aber in basipetaler Folgerichtung vor sich geht. Möglich ist aber ein solcher Entwicklungszustand, wo die basipetale Entwicklung des Prokambiums nicht erkennbar ist.

*Die Differenzierung der Blattprimordien*

Die Ausbildung der Blattanlagen geht, wie schon oben erwähnt, aus einem halbmondförmigen Höcker aus, welcher an einer Seite des Vegetationskegels subapikal entsteht. Anfangs besteht die ganze Blattanlage aus Urmeristem, doch alsbald — noch zum Zeitpunkt der höchsten Lage des Primordiums — beginnt, von der dorsalen Flanke der Anlage ausgehend, die sukzessive Differenzierung, welche vorderhand im Ansteigen der zytokaren Verhältniszahl zum Ausdruck kommt. Etwas ältere, von der Spitze gerechnet an zweiter Stelle

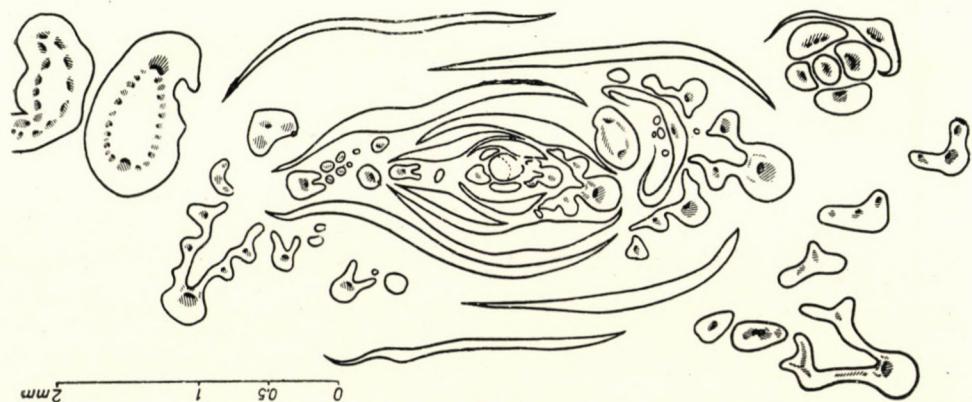


Abb. 2. Schematischer Querschnitt durch den Sprosskegel von *Ezerjó*, in der Höhe des Vegetationspunktes. Die oberste Blattanlage hängt mit dem Achsen teil des Vegetationskegels zusammen (durch gestrichelte Linie getrennt). Die Prokambiumbündel sind gestrichelt, das Protoxylem schwarz dargestellt. Die mediane, mit dem Orthostichon der Blattstellung identische Ebene des Sprosses ist in der Abbildung horizontal gelagert. Deutlich erkennbar ist der Entwicklungsgrad der aufeinanderfolgenden Blattanlagen, der Querschnitt der grossen flachen Stipeln und der Rankenanlagen

liegende Blattanlagen weisen schon eine äussere Gliederung auf, insofern sie eine dreifache Gliederung erfahren und die zwei seitlichen Höcker zu Anlagen der zwei Nebenblätter werden (Abb. 2). Im folgenden soll unter Blattanlage stets nur der Teil ohne Nebenblätter verstanden werden, wobei dann die Entwicklung der Nebenblätter noch besonders erörtert wird.

Die zweite Blattanlage besteht gänzlich aus Übergangsmeristem, doch sei in diesem Zusammenhang erwähnt, dass dieses keinen homogenen Charakter aufweist, sondern der Grad der Differenzierung sich von der dorsalen (abaxialen) Mittellinie zu der ventralen (adaxialen) Flanke und zu den Rändern hin sukzessive verringert. In der Mittellinie des Primordiums setzt die Differenzierung des Prokambiums ein. Das Meristem der Nebenblattanlagen weist ein etwas fortgeschritteneres Bild auf als jenes des Blattprimordiums. Das Protoderm der ventralen Seite des Nebenblattes besteht aus granularen eiweissführenden Zellen (Abb. 6).

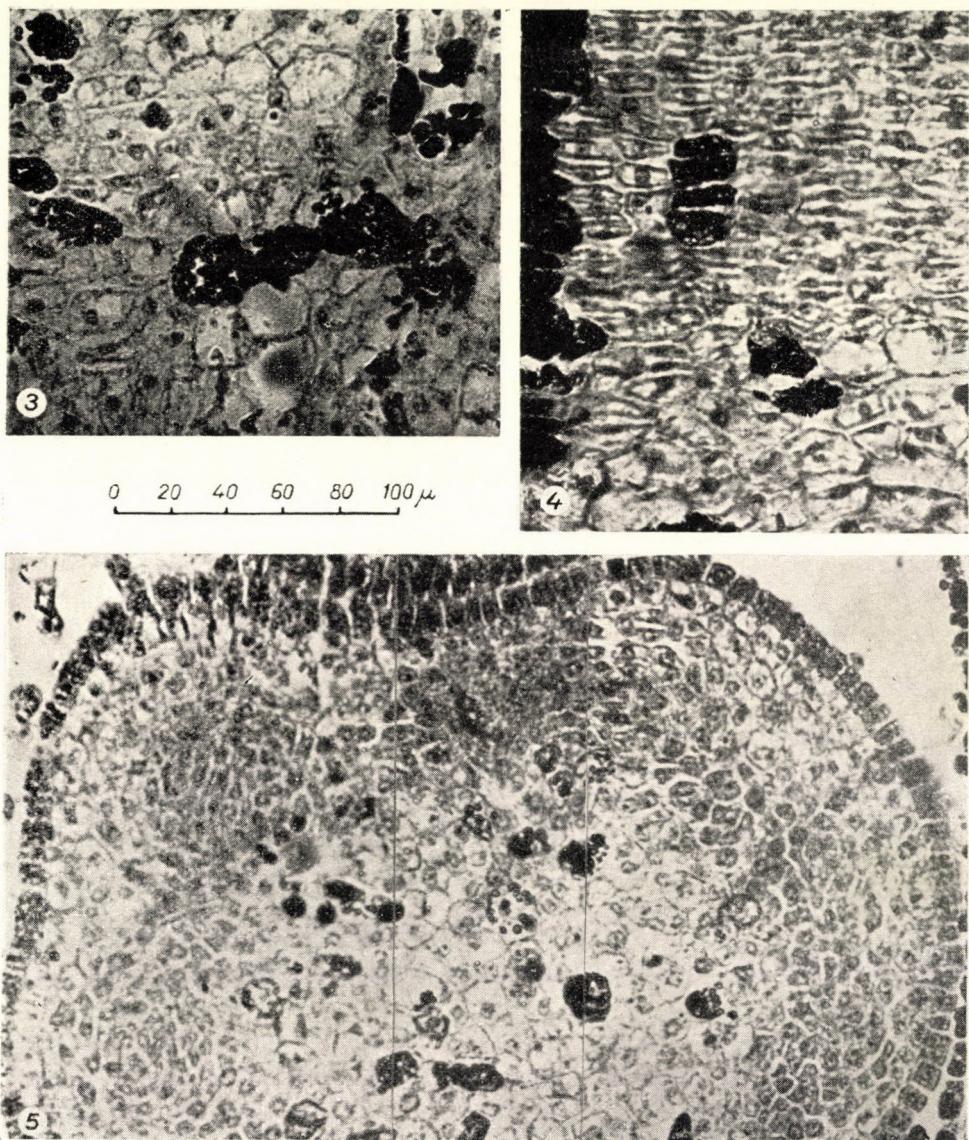


Abb. 3. Teil des Längsschnittes in der Höhe der 3. Blattanlage. Granulare eiweissführende Zellen im Meristem des Diaphragmas. 4. Längsschnitt mit einem Teil des Diaphragmas des 8. Nodus (unten) und des übergelagerten Markmeristems. Links kompakte, in der Mitte körnige eiweissführende Zellen in langgestreckten Reihen im Markmeristem. 5. Querschnitt durch den Stengel, in der Höhe zwischen der 2. und 3. Blattanlage. Selbständige Prokambiumbündel im Ring des Übergangsmeristems. Im Protoderm körnige, im Markmeristem zerstreut granulare und kompakte Eiweisszellen. Die Epidermis des Nebenblattes (rechts) besteht aus kompakten Eiweisszellen

Die dritte Blattanlage differenziert sich schon zu Stiel und Spreite und auch die Gliederung der Blattspreite setzt ein. Vorderhand bildet die Blattspreite drei Lappen aus, mit je einem Prokambiumbündel. Im Prokambium des mittleren Lappens (Mittelnerv), in der Basis des Blattprimordiums fängt die Differenzierung des ersten Protoxylelementes an. Die äusseren Lappen der Blattanlage und die ventrale Seite des mittleren Lappens bestehen aus Übergangsmeristem, in der dorsalen Seite des letzteren ist dagegen schon Grundmeristem vorhanden (zytokare Verhältniszahl 2,12). In einzelnen Teilen des ventralen Protoderms (in der Mittellinie der Lappen) erscheinen die granularen eiweissführenden Zellen (Abb. 7). Im Stielteil des Primordiums sind 5 Prokambiumbündel vorhanden, welche sich in einem adaxial offenen Halbkreis anordnen (Abb. 8). In der unteren Hälfte des Stielteiles, auf der adaxialen Seite der Prokambiumbündel, treten granulare eiweissführende Zellen in Erscheinung. In der Zone, wo die Blattanlage der Achse anliegt, steigt auf der adaxialen Seite die Anzahl der eiweissführenden Zellen stark an. Diese Erscheinung ist auch für die Basis der älteren Blattanlagen kennzeichnend und steht mit der in den Diaphragmen vorhandenen grossen Anzahl eiweissführender Zellen im Zusammenhang. Die Nebenblattanlagen entwickeln sich kräftig; auch in diesem Wachstum kommt die dorsiventrale Struktur des Sprosses zum Ausdruck. Das Nebenblatt in der dorsalen Flanke des Vegetationskegels entwickelt sich kräftiger und beugt sich gewölbeartig über den Spross. Im weiteren Verlauf der Entwicklung wölbt sich auch das ventrale Nebenblatt auf die Sprosspitze bzw. auf das sich schon anschmiegende dorsale Nebenblatt. Der Schutz der empfindlichsten Gewebe des Vegetationskegels wird auf diese Weise durch die Nebenblätter bewirkt. Das Protoderm der Nebenblätter besteht beinahe vollständig aus granularen eiweissführenden Zellen, hiervon bilden lediglich die Randzellen der dorsalen Flanke eine Ausnahme. Auch im Innern des Nebenblattes hat sich die Merhzahl der Zellen in eiweissführende Zellen umgewandelt, u. zw. teils in granulare, teils in kompakte. Charakteristisch für die Nebenblätter ist, dass sie weder Prokambium noch Leitungsgewebe ausbilden. Im mittleren Teil der Nebenblätter treten die ersten Kristallzellen auf. Die Nebenblätter der 5. Blattanlage sind im Wesen vollkommen ausgebildet, im weiteren Verlauf der Entwicklung ist in ihnen von einem geringen Wachstum abgesehen, keine Veränderung zu beobachten.

Der Spreitenteil der 4. Blattanlage weist schon 5 Lappen auf. Im Mittelnerv schliessen sich an das mediane, zwei laterale Prokambiumbündel an. Dem medianen Mittelnervenbündel entlang erstreckt sich die Reihe der ersten Protoxylelemente, ferner sind hier auch die ersten Protophloemelemente erkennbar. Das dorsale Protoderm des Mittelnervs besteht aus körnigen eiweissführenden Zellen. Zwischen dem Hauptnerv und den Nebennerven beginnt infolge der Funktion der Spreitenmeristeme das Flächenwachstum der Blattspreite. Auf diese Weise schliesst sich im Flächenwachstumsvorgang an das

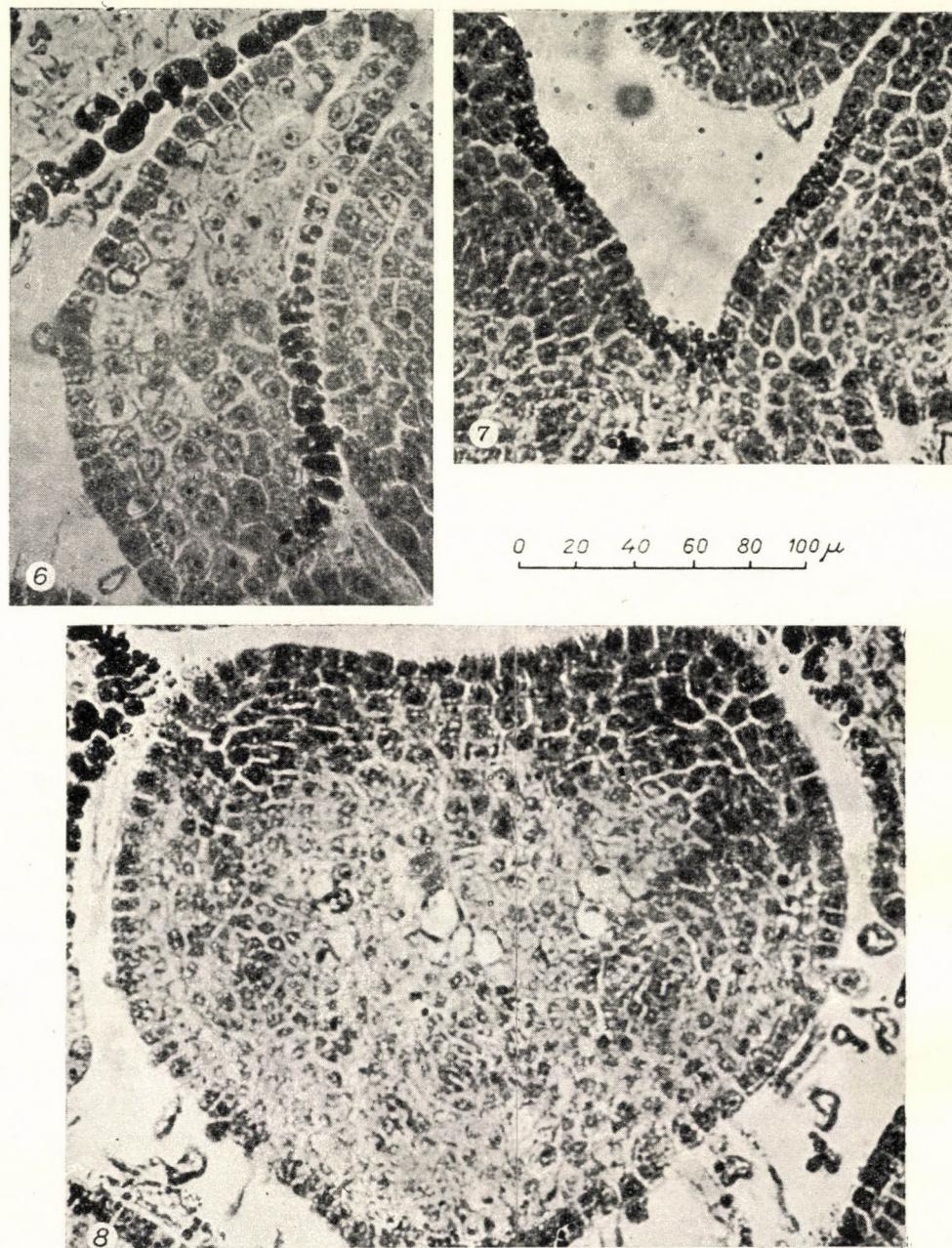


Abb. 6. Linkes Nebenblatt der 2. Blattanlage im Querschnitt. Rechts die Achse des Vegetationskegels, unten ein Teil der 2. Blattanlage, links oben Teil aus dem Nebenblatt der 3. Blattanlage. 7. Teil eines Querschnittes der 3. Blattanlage. Oben, Teil der Achse des Vegetationskegels. In den, den Blattnerven entsprechenden Abschnitten des ventralen Protoderms, granulare eiweissführende Zellen. 8. Querschnitt durch den Stielteil der 3. Blattanlage. Die dorsale Seite schon mehr fertig ausgebildet mit selbständigen Prokambiumbündeln: die ventrale Seite besteht aus Übergangsmeristem

bisher wirkende marginale, noch zusätzlich das interkalare Wachstum an. Die Differenzierung der seitlichen Lappen ist geringer (Abb. 2).

In der 5. Blattanlage lässt sich erkennen, dass der Spreitenteil durch Entwicklung von zwei kleinen Seitenlappen 7-lappig geworden ist (Abb. 2). Das ganze ventrale Protoderm, ferner das dorsale Protoderm der Nervatur besteht aus körnigen eiweissführenden Zellen. Die dorsal-subprotodermale Schicht des Mittelnervs ist teils aus granularen, teils aus kompakten eiweissführenden Zellen zusammengesetzt. Das mediane Prokambiumbündel des Mittelnervs gliedert sich in drei Teile und in allen drei Teilen hat die Differenzierung schon eingesetzt. Die beiden lateralen Bündel des Mittelnervs bestehen noch aus völlig undifferenziertem Prokambium. In der ventralen Seite des Mittelnervs tritt eine perikline (kambiumartige) Teilung auf, welche die Ausbildung der beiden ventralen Prokambiumbündel des Mittelnervs zum Resultat hat (Abb. 9). In den beiden, dem Mittelnerv benachbarten Seitennerven setzt die Entwicklung des Protoxylems gleichfalls ein. In den sich differenzierenden Prokambiumbündeln sind schon einige kompakte Eiweisszellen anzufinden. Im dorsalen Parenchym des Mittelnervs werden die ersten Kristallzellen sichtbar. Gleichfalls in dieser Blattanlage lassen sich die ersten, im Wachstum begriffenen Perldrüsen erkennen. Im Stielteil der Blattanlage ordnen sich 7 Prokambiumbündel adaxial in einem offenen Bogen an, während zwei ventrale Prokambiumbündel den Kreis der Stränge abschliessen. Die Spreitebildung setzt sich fort; auf der adaxialen Seite der Spreiteteile, in der subprotodermalen Schicht, welche die Mutterschicht des Palisadenparenchyms darstellt, gestalten sich einige Zellen in kompakte Eiweisszellen um. Die Gewebe der Stipeln haben ihre Dauerform aufgenommen, einzige die Ränder sind noch etwas meristematisch.

Das Wachstum und die Gliederung des Spreiteteils der 6. Blattanlage schreiten weiter, doch bleiben ihre wesentlichen strukturellen Züge den vorhergegangenen Formen gleich. Die Zahl der Nerven steigt und zwischen den Nerven schreitet das Flächenwachstum der Spreitenteile fort. Auch in den anfangs aus Prokambium bestehenden Seitennerven setzt die Bildung von Protoxylelementen allmählich ein. Die Protoxylelemente stellen Tracheiden bzw. tracheidenartige Tracheen mit Spiralverdickungen dar. Etwas später setzt die Differenzierung des Protophloems ein und gleichzeitig damit werden dort kompakte eiweissführende Zellen erkennbar. In der sich entwickelnden Blattspreite lassen sich 5 Schichten unterscheiden: das untere (dorsale) und obere (ventrale) Protoderm, die untere und obere subprotodermale Zellschicht, endlich das mittlere, aus 2—3 Zellschichten bestehende Meristem, welches viel geringer differenziert ist als die restlichen Schichten. In den Stipeln ist die Fertigstellung der Gewebe festzustellen.

Die 7. Blattanlage ist auf dem Weg der Differenzierung weitergeschritten. Der Strang des Hauptnervs hat sich kräftig differenziert (Abb. 11), gleichzeitig hat auch die Bildung von Protoxylem in 8 Seitennerven eingesetzt. Das Grund-

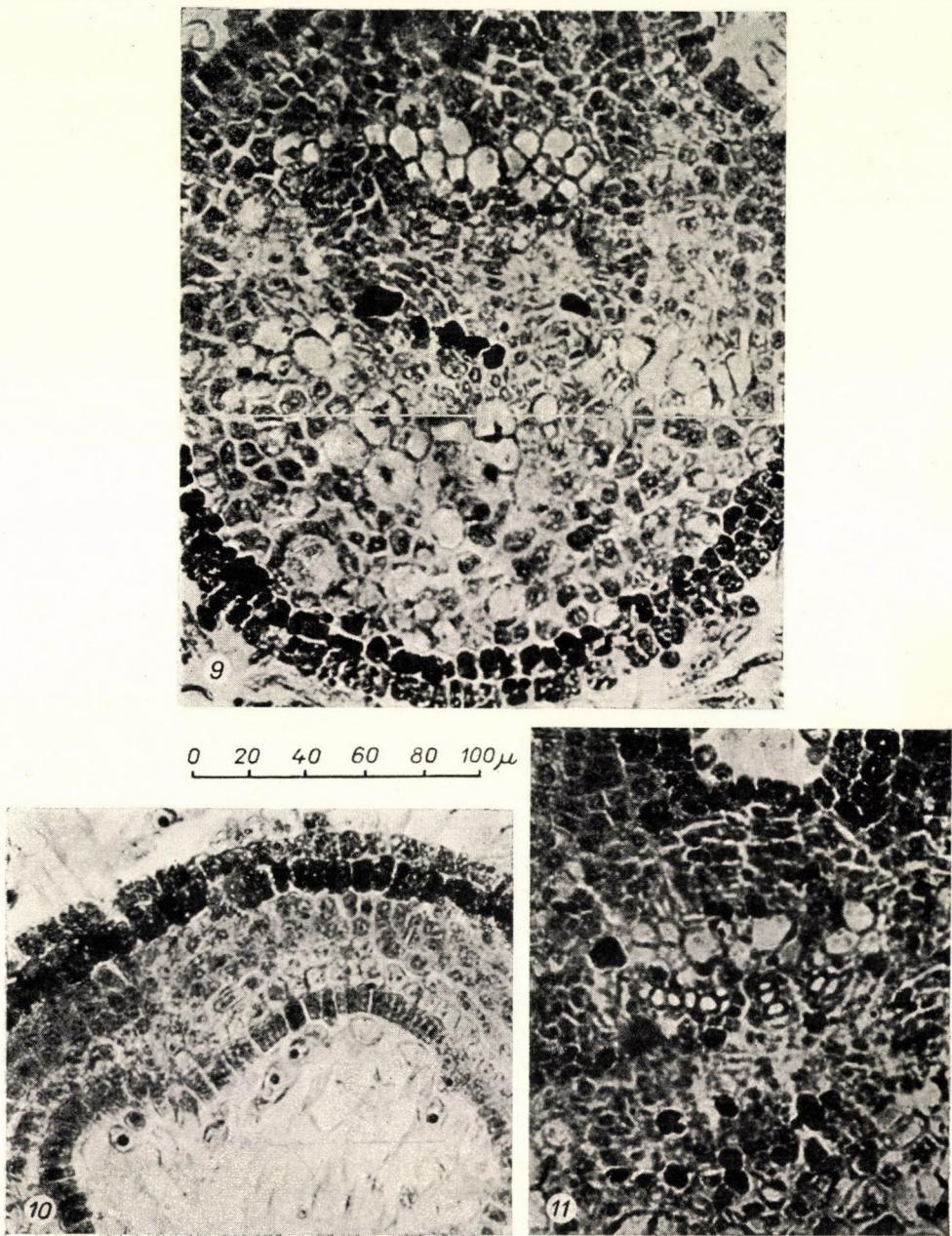


Abb. 9. Querschnitt durch den Mittelnerv der 5. Blattanlage. Im dorsalen Protoderm granulare, in der subprotodermalen Schicht kompakte eiweissführende Zellen. Angehende Fertigstellung im medianen Prokambiumbündel. In der ventralen Seite Übergangsmeristem. 10. Teil aus dem Querschnitt der Spreite der 7. Blattanlage. Die adaxiale subprotodermale Schicht (die Mutterschicht des Palisandenparenchys) besteht aus kompakten eiweissführenden Zellen. 11. Teil aus dem Querschnitt des Mittelnervs der 7. Blattanlage. In der Mitte das im Prokambiumbündel gebildete Protoxylem und Protophloem, an der ventralen Seite (in der Abbildung oben) sind perikline Teilungen deutlich erkennbar, als deren Resultat sich die ventralen Prokambiumbündel ausbilden. (Sämtliche Photographien wurden mit einem Leitz-Ortholux Mikroskop, Linsenvergrösserung 6×45, mit einem Contax Kleinfilm-Photoapparat hergestellt)

meristem in der dorsalen Seite des Hauptnervs nähert sich dem Zustand, in welchem es als Dauergewebe anzusprechen ist (zytokare Verhältniszahl 3,88). Die Differenzierung der dem Hauptnerv am nächsten verlaufenden je 2 Seitennerven ist gleichfalls stark fortgeschritten. Hier haben sich die lateralen Bündel entwickelt und in der ventralen Seite hat die perikline Teilung eingesetzt. In denselben Nerven treten die ersten kompakten eiweissführenden Zellen und auch die ersten Kristallzellen auf. In den Spreiteteilen lassen sich die einzelnen Schichten genau so deutlich unterscheiden wie in den vorangehenden Blattanlagen (Abb. 10). Die mittlere Schicht befindet sich noch im Zustand des Übergangsmeristems (zytokare Verhältniszahl 1,71) und jetzt entwickeln sich in ihr die Prokambiumbündel der kleineren Nerven.

In der 8. und 9. Blattanlage setzt sich das Wachstum und die Differenzierung fort, doch wesentliche Veränderungen treten nicht mehr ein.

### Besprechung der Ergebnisse

Die wichtigsten Ergebnisse der beschriebenen Untersuchungen lassen sich darin zusammenfassen, dass sie die Gewebedifferenzierung des Vegetationskegels der Weinrebe eingehend schildern, dadurch zur Beleuchtung eines umstrittenen Fragenkomplexes beitragen und zu gleicher Zeit eine Grundlage zu weiteren Untersuchungen der aus praktischen Gesichtspunkten so wichtigen Frage der Holzreife und Fruchtbildung legen.

Die Differenzierung im Vegetationskegel der Weinrebe lässt sich mit ähnlichen Vorgängen vergleichen, die Verfasser im Vegetationskegel anderer Dikotyledonen beobachtet hat.

Im Markteil der Sprossachse nimmt die Differenzierung eine akropetale Folgerichtung ein, im Rindenteil dagegen geht sie von der Basis der einzelnen Blattanlagen aus und verläuft nach innen, seitwärts und nach unten. Zwischen der äusseren und inneren, kräftiger differenzierten Meristemzone verbleibt in Form eines Zylindermantels eine Schicht aus Übergangsmeristem bestehen und in dieser setzt sich die prokambiale Differenzierung fort. Es ist dies der Ring, der von KOSTYTSCHEW [13] als Prokambium, von HELM [11] als primärer Meristemring, von KAPLAN [12] aber als Restmeristem angesprochen wird. Der Charakter dieses Ringes kommt jedoch in der Bezeichnung »Übergangsmeristemring« am anschaulichsten zum Ausdruck. Dabei sei noch betont, dass die Meristeme ausserhalb und innerhalb des Ringes gleichfalls den Übergangsmeristemzustand durchschritten haben, aber viel schneller als dieser Ring. Im Zusammenhang mit der prokambialen Differenzierung interessieren sich die Forscher der Histogenese für zwei Fragen. Die von KOSTYTSCHEW [13] aufgeworfene Frage kann jedoch durch die Ergebnisse von SÁRKÁNY [19, 20], HEGEDÜS [6] und anderen als entschieden betrachtet werden; zu diesem Problem wäre lediglich soviel hinzuzufügen, dass auch in der Weinrebe das Prokambium

in abgesonderten Bündeln entsteht und auch die Leitbündel selbständig bleiben. Dazu wäre noch zu erwähnen, dass diese Selbständigkeit nicht vollkommen ist, da die Gefäßbündel durch die Markstrahlen, von Tracheen-Überbrückungen verbunden werden. ESAUS [3] Feststellung, dass das interfaszikulare Kambium ausschliesslich Markstrahlparenchym erzeugt, scheint demnach unbegründet zu sein.

Die mit der prokambialen Differenzierung zusammenhängende zweite Frage ist, ob die Entwicklung der Prokambiumbündel in der Sprossachse in akropetaler oder in basipetaler Richtung verläuft. Früher war der basipetale Entwicklungsgang im allgemeinen anerkannt. Die Untersuchungen des Verfassers haben gleichfalls zu diesem Ergebnis geführt, welches auch durch Beobachtungen von KAPLAN [12], Experimente von BALL [1] usw. bekräftigt wurde. Doch jüngstens haben mehrere Forscher, z. B. REEVE [17], MILLER [16] usw. auch im Vegetationskegel der Dikotyledonen einen akropetalen Entwicklungsgang beobachtet. In diesem Zusammenhang erscheinen die vom Verfasser durchgeführten gegenwärtigen Untersuchungen über die Weinrebe von besonderer Wichtigkeit, da aus diesen ersichtlich ist, dass die Prokambiumbündel sich in basipetaler Richtung differenzieren; doch können auch Entwicklungsstadien vorkommen, in welchen sich die schon ausgestalteten Prokambiumbündel den älteren anschliessen, neuere den Entwicklungsgang noch nicht angetreten haben, so dass der basipetale Entwicklungsmodus nicht erkennbar ist.

Ein anderes Problem, welches die Forscher lebhaft beschäftigt, ist die Zonation des Urmeristems der Sprossvegetationskegel. In den Dikotyledonen werden im allgemeinen zwei Zonen unterschieden, die Tunika und der Korpus. Diese sind im Vegetationskegel der meisten Dikotyledonen erkennbar, die Ergebnisse von FOSTER [4], REEVE [17, 18], MILLER [16] und zahlreichen anderen Forschern haben jedoch bewiesen, dass 1. die Gliederung in Korpus und Tunika kein allgemeiner Charakterzug der Sprosskegel ist, sondern sich nur auf die Angiospermen bezieht und auch hier mit Ausnahmen; 2. die Gliederung mit der späteren Gewebeentwicklung keinen Zusammenhang aufweist; 3. die Anzahl der Tunikaschichten oft nicht kennzeichnend für die Art ist, 4. die Grenze zwischen den beiden Schichten häufig verschwommen ist und auch Übergangsschichten vorkommen. Diese Feststellungen erbringen den Nachweis, dass der Tunika-Korpus Konzept keine allgemeine Gültigkeit hat und nicht festumrissen ist, so dass zwar Verfasser die Tatsache der Zonation anerkennt, doch die Anwendung von besonderen Benennungen als überflüssig betrachtet. Dies um so weniger, als die eigenen einschlägigen Untersuchungen die Erfahrung erbracht haben, dass die zweite Zellschicht einiger zweireihiger Tunikas nicht so betont ist wie die erste; deshalb neigt Verfasser zu der Annahme, dass die einzellreihige Tunika die tatsächliche Wirklichkeit, die mehrzellreihige jedoch mehr oder minder eine Trugerscheinung ist. Wenn demnach die einzellreihige Tunika die Wirklichkeit darstellt, dann erübrigt sich der Gebrauch der Bezeich-

nung »Tunika«. Diese Zellschicht ist tatsächlich histogen, aus ihr bildet sich die Epidermis; darum wird vom Verfasser der Gebrauch der Bezeichnung »Protoderm« vorgeschlagen.

#### LITERATUR

1. BALL, E. (1951) Influence of shoot apex on subjacent shoots of *Lupinus albus*. *Nature*, **167**, 36—37.
2. Баранов, П. А. (1946) Строение виноградной лозы. In *Ампелография СССР*. Пищепромиздат, Москва. 217—346.
3. ESAU, K. (1953) *Plant anatomy*. Wiley, New York.
4. FOSTER, A. S. (1941) Comparative studies on the structure of the shoot apex in seed plants. *Bull. Torrey Bot. Club*, **68**, 339—350.
5. GILG, E. (1896) Vitaceae. In ENGLER, A. *Die natürlichen Pflanzenfamilien*. III/5, Engelmann, Leipzig. 427—456.
6. HEGEDÜS, Á. (1949) Is there a correlation between leaf arrangement and the manner of ontogeny of the conductive tissues of stems? *Bot. Gaz.*, **110**, 593—600.
7. HEGEDÜS, Á. (1949) Szövetfejlődéstani vizsgálatok az *Asarum europaeum* virágján. Histogenetical studies on the flower of *Asarum europaeum*. *Index Horti Bot. Univ. Hung.*, **7**, 30—47. (Ungarisch, englische Zusammenfassung.)
8. HEGEDÜS, Á. (1949) Az *Asarum europaeum* szárának és levelének szövetfejlődése. Histogenesis of the stem and leaf of *Asarum europaeum*. *Index Horti Bot. Univ. Hung.*, **7**, 48—62. (Ungarisch, englische Zusammenfassung.)
9. HEGEDÜS, Á. (1954) Megjegyzések a kolokán (*Stratiotes aloides* L.) gyökérscsúcsának szöveteire vonatkozólag. Bemerkungen zu den Wurzelspitzengeweben der Krebschere (*Stratiotes aloides* L.). *Bot. Közl.*, **45**, 29—34. (Ungarisch, deutsche Zusammenfassung.)
10. HEGEDÜS, Á. (1954) Die Differenzierung der Meristeme im Sprossvegetationskegel. *Acta Bot. Hung.*, **1**, 47—59.
11. HELM, J. (1931) Untersuchungen über die Differenzierung der Sprossscheitelmeristeme von Dikotylen unter besonderer Berücksichtigung des Prokambiums. *Planta*, **15**, 105—191.
12. KAPLAN, R. (1937) Über die Bildung der Stele aus dem Urmeristem. *Planta*, **27**, 224—268.
13. KOSTYTSCHEW, S. (1924) Der Bau und das Dickenwachstum der Dikotylenstämme. *Beih. Bot. Cbl.*, **40**, 295—350.
14. KROEMER, K. (1923) Organographie, Anatomie und Physiologie der Rebe. In BABO, A., MACH, E. *Handbuch des Weinbaues*. 4. Aufl. I/I. Parey, Berlin. 255—456.
15. Мержанян, А. С. (1951) Виноградарство. Пищепромиздат, Москва.
16. MILLER, H. A., WETMORE, R. H. (1946) Studies in the developmental anatomy of *Phlox Drummondii* HOOK. III. The apices of the mature plant. *Amer. J. Bot.*, **33**, 1—10.
17. REEVE, R. M. (1942) Structure and growth of the vegetative shoot apex of *Garrya elliptica* DOUGL. *Amer. J. Bot.*, **29**, 697—711.
18. REEVE, R. M. (1948) Late embryogeny and histogenesis in *Pisum*. *Amer. J. Bot.*, **35**, 591—602.
19. SÁRKÁNY, S. (1934) A szállítószövetrendszer kifejlődése a *Ricinus communis* szárában. Die Entwicklung des Leitungssystems bei *Ricinus communis*. *Bot. Közl.*, **31**, 185—218. (Ungarisch, deutsche Zusammenfassung.)
20. SÁRKÁNY, S. (1937) Szövetfejlődéstani vizsgálatok az *Aristolochia siphon* szárában. Histologisch-entwicklungsgeschichtliche Untersuchungen im Stengel der *Aristolochia siphon*. *Bot. Közl.*, **34**, 120—140. (Ungarisch, deutsche Zusammenfassung.)
21. VARGA, F. (1925) Adatok a növények belsejtei elhalásának ismeretéhez. Beiträge zur Kenntnis des Alterstodes der pflanzlichen Markzellen. *Math. Term.-tud. Ért.*, **41**, 85—100. (Ungarisch, deutsche Zusammenfassung.)
22. VIALA, P., PÉCHOUTRE, F. (1909) Morphologie du genre *Vitis*. In VIALA, P., VERMOREL, V. *Ampélographie*. I. Masson, Paris. 113—449.

## ГИСТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ КОНУСА НАРАСТАНИЯ СТЕБЛЯ ВИНОГРАДА

В исследованных конусах нарастания стебля, длиной приблизительно в 7 мм, и обладающих 6—9 зачатками листьев, происходит образование органов, также как и отграничение, детерминация отдельных меристематических областей. Дифференциация же совершенно развитых постоянных тканей наблюдается лишь в весьма небольшом количестве в ксилеме и в флоэме. Фазы растяжения и стабилизации тканей следуют только затем. Ход дифференциации меристем сводится к следующему: в меристеме конуса нарастания уже можно распознавать поверхностный слой, из которого образуется протодерма, а затем эпидермис. Следовательно, протодерма является дифференцирующейся раньше всего меристемой конуса нарастания винограда. Остальные части первичной меристемы преобразовываются при постепенном нарастании цитокара в переходную меристему, в которой проявляются первые прокамбимальные пучки. В осевой линии конуса нарастания в акропetalном направлении, а на краю — исходя из дорсальной части основы отдельных зачатков листьев — процесс дифференциации продолжается, вследствие чего переходная меристема образует поверхность цилиндра (в поперечном сечении кольцо). Данное кольцо указывает место образующейся в последствии системы проводящих тканей, причем в конусе нарастания ограничивается также и основная меристема сердцевины и коры. Процесс дифференциации постоянных тканей происходит в зачатках листьев, начиная с основы дорсальной стороны, в адаксиальном, латеральном и акропetalном направлениях. Прежде всего образуется осевая часть зачатков листьев (стебель и средняя жилка), и в латеральном направлении от последней отходят затем остальные крупные жилки пластинки. Остальные части пластинок листьев образуются интеркалярным ростом. В пластинках листьев дифференцируется весьма рано, — уже в 5-м зачатке листьев — меристема столбчатой и губчатой паренхимы. Прокамбий сети жилок, образующейся — на вентральной стороне — в стебле и в крупных жилках листьев, возникает позднее, в результате периклинальных делений. В кольце переходной меристемы, по мере развития зачатков листьев образуются за счет окружающей переходной меристемы, все новые прокамбимальные пучки, а имеющиеся прокамбимальные пучки также могут нарастать. Пока имеется переходная меристема, имеется также и возможность образования новых прокамбимальных пучков. Когда образование всех прокамбимальных пучков (в стебле винограда около 40) закончено, тогда остальная переходная меристема преобразовывается в основную меристему, из которой развиваются первичные сердцевинные лучи стебля. Развитие прокамбимальных пучков начинается у основы зачатков листьев, и проходит вниз по стеблю, и вверх по листу (т. н. базипетальный способ развития). Стабилизация первых элементов протоксилемы также отходит с основы зачатков листьев, и проходит отсюда вниз по стеблю и вверх по листу.

В качестве существенных новых установлений следует еще отметить: образование коэффициента цитокара в меристемах винограда, значение содержащихся белки клеток различного типа в дифференциации, ранняя дифференциация меристемы диафрагмы от меристемы сердцевины, и новые эволюционные доказательства дорсивентрального строения виноградного побега.

### [HISTOGENETICAL STUDIES ON THE SHOOT APICES OF THE GRAPEVINE]

Within the shoot apices under observation, showing 8—9 leaf primordia and averaging 7 mm in length, takes place the formation of the various organs as well as the demarcation and determination of the various meristematic zones. Mature tissues appear only in very small quantities in the xylem and the phloem. The phase of elongation and maturation is yet to come. The course of differentiation of the meristems may be summarized as follows: In the meristem of the shoot apex the external layer, from which the protoderm and later on the epidermis will develop being already distinguishable, the first meristem to be separated in the shoot apex of the grape is the protoderm. The remaining parts of the promeristem change, while increasing gradually their cytocar ratio, into transitory meristem; it is here that appear the first bundles of the procambium. Differentiation spreads then acropetally in the middle of the axis, while in the abaxial regions it departs from the dorsal part of the basis of the leaf primordia; the transitory meristem will be thus limited to a cylinder jacket (in transection a ring). This ring indicates the area of the future vascular system and sets the limits to the ground meristems of pith and cortex too. In the leaf primordia the maturation takes place, from the basis of the dorsal flank in adaxial, lateral and acropetal direction. First to develop, is the axis of the leaf

primordium (petiole and midvein) the development of the larger veins of the blade proceeds from here laterally. The remaining parts of the blade form later by intercalary growth. Very soon, already in the 5th leaf primordium takes place in the leaf blade the delimitation of the meristems of the palisade and the spongy parenchyma. In the petiole and in the bigger veins the procambia of the vascular bundles of the ventral side, are produced later as a result of periclinal divisions. In the ring of the transitory meristem, in conformity with the evolution of the leaf primordia, new procambium bundles intercalate and those existing already increase at the expense of the neighbouring meristem. As long as there is any transitory meristem, there is also the possibility of developing for additional procambial bundles. But as soon as the procambial bundles are complete in number (which in the grape shoot means roughly 40) the remaining transitory meristem changes into ground meristem, from which later on the primary pith-rays of the stem develop. The differentiation of the procambial bundles starts at the basis of the leaf primordia and proceeds basipetally downwards in the stem and upwards in the leaf. The maturation of the first protoxylem elements starts equally at the basis of the leaf primordia and spreads upwards in the leaf and downwards in the stem.

As the following data appear to be new and significant special mention should be made of the variations of the cytokin ratio in the meristems of the grape, the importance of the albuminous cells of different types, the early separation of the meristem of the nodal diaphragms from the pith meristem and a new ontogenetic evidence for the dorsiventral structure of the grape shoot.

ÁBEL HEGEDÜS, Budapest, II., Herman Ottó út 15. Ungarn.



# THE CHANGE IN THE CELL NUMBER AND IN THE NUCLEIC ACID CONTENT OF SEEDLINGS

M. MARÓTI

INSTITUTE OF PLANT PHYSIOLOGY OF THE EÖTVÖS LORÁND UNIVERSITY, BUDAPEST (HEAD: V. FRENYÓ)

(Received September 10, 1955)

## Summary

Setting out in our experiments from the hypothesis that roots of seedlings are capable of a more intense synthesis of nucleic acid than the shoot, we have compared on the first nine days of the development of the embryo the increase in the total number of cells of the root and shoot of bean seedlings grown in distilled water, as well as the changes in the phosphorus content of the dry matter and of the nucleic acid of the organs.

From the experimental results obtained — confirming thus our earlier data — we have ascertained that the conditions of cell growth are considerably more favourable, the speed of division and the rate of differentiation of cells are more intense in the seedlings with cotyledons than in the shoot devoid of the primary leaf. At the end of the fourth day the cell growth of the root was tenfold, that of the shoot fourfold. The calculated value of the speed of division of the root was of the order of 3,7 and that of the shoot of the order of 2,8. The differentiation of root cells occurs one day earlier than that of the shoot cells. After the exhaustion of the cotyledons the ratio of cell growth of the shoot of the seedling grown in distilled water attains or even exceeds that of the roots, which phenomenon was brought into connection with the translocation of the material from the root into the shoot. The distribution of the total phosphorus and of the nucleic acid phosphorus observed in the root and in the shoot of seedlings tallies with the changes in the cell number and supports our assumption as to the more intense metabolism of the root. The NA—P values computed to the single organs, respectively to a cell of them, confirm — in accordance with our earlier results — our conception that the root synthesizes more intensely than the shoot, but under certain conditions, e. g. under starvation, the nucleic substances or their constituents are translocated into the shoot, as also confirmed by the experiments of KONAREV.

## Introduction

The most important sites of growth and development of plants are the young meristematic zones [14]. This physiologically important role of the meristematic zones is primarily determined by the metabolic processes taking place in them. In the metabolic processes an essential part is played by the synthesis of nucleic acids and their distribution respectively. A large number of authors [1, 6, 14] has studied the distribution of nucleoproteids in the vegetative organs of plants in the course of the ontogenesis, and they have ascertained that nucleic acids concentrate in a larger amount in those vegetal parts in which the formative processes : cell division, cell growth and cell differentiation progress most intensely.

The relation between the development and the distribution of nucleic acids can be proved by the change of the functional state of plant organs occur-

ring under experimental conditions [7, 8, 9, 13, 19]. It can be proved experimentally that in isolated seedling roots grown in distilled water the number of mitoses decreases, growth is slower and is thereafter accompanied by the strong decrease of the RNA. The troubles of developmental processes can be traced back here to phosphorus and nitrogen deficiency ensuing from starvation [14].

The different organs of the plant, however, do not react equally and simultaneously to the metabolic troubles manifesting themselves as a result of starvation. This follows from the divergent developmental processes and the physiological role of the different organs, e. g. the root and the shoot. In the relevant literature the different authors [4, 12, 16, 20, 23] in general deal with the metabolic conditions of one organ only, examinations on the metabolism of the root as well as of the shoot performed under identical conditions can hardly ever be encountered [3, 5, 17, 18, 19]. This fact has prompted us to compare — from the aspect of growth and development — root and shoot cultures grown under identical controlled conditions, and the roots and shoots of intact plants, respectively.

We have ascertained from the examinations carried out hitherto that in the meristems of roots the number of cells is larger, the speed of division and the rate of cell differentiation are more intense than in the shoot [17]. The nucleic acid ratio computed to the organ, respectively to the cell, supports this state of the root of the seedling fairly well. On the other hand, the nucleic acid conditions of isolated organs have confirmed our assumption that under given appropriate conditions the root is better able to synthesize nucleic acids than the shoot [19]. In intact plants the shoot is apparently a more intense synthesizing site than the root; however, on the strength of the data in the literature [7, 10, 14] on the one hand, and of our own experimental results, on the other, we have assumed that the root is able to synthesize nucleic acids in intact plants too, but under certain conditions, e. g. under starvation, the synthesized material or its constituents are translocated into the shoot.

In these current experiments we have compared in the course of the development of the seedling the conditions of cell growth and of nucleic acid distribution in the root and in the shoot of seedlings grown in distilled water, with a view to ascertain more precisely, on the one hand, the root synthesis, and, on the other, the presumable translocation of nucleic acids, as well as the changes of the dry matter of the organs.

#### Materials and methods

The regional variety *Phaseolus vulgaris* "Cukorpaszuly" was used as experimental material.

The carefully selected seeds were soaked over six hours in tepid water and the seed coat was then removed. Ten seeds without seed coats were placed in a Petri-dish of 12 cm diameter. A double layer of filter paper was placed under the seeds. We poured 30 ml of water into each

container at the outset of the experiment, as well as on the fifth and seventh day. The cultures were lighted with natural diffused light in a thermostat with a glass door at a temperature of 27—30° C. The analysis was effected after a swelling of six hours, every 24 hours over nine days. Distilled water cultures were used because, on the one hand, we wanted to compare the conditions of the root and of the shoot in the presence of the fewest possible external factors, and on the

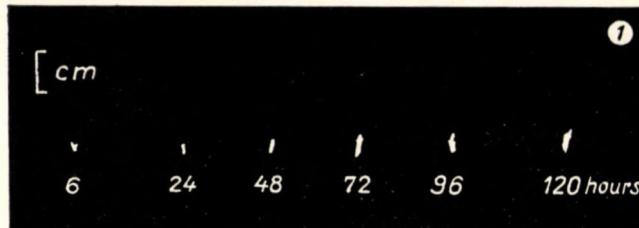


Fig. 1. Shoot of bean seedling without primary leaf swelling after culture of 1, 2, 3, 4, 5 days

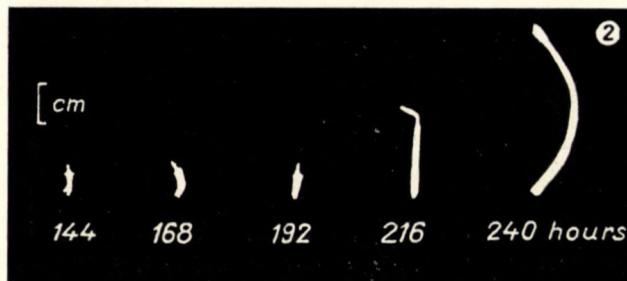


Fig. 2. Shoot of bean seedling without primary leaf after culture of 6, 7, 8, 9, 10 days

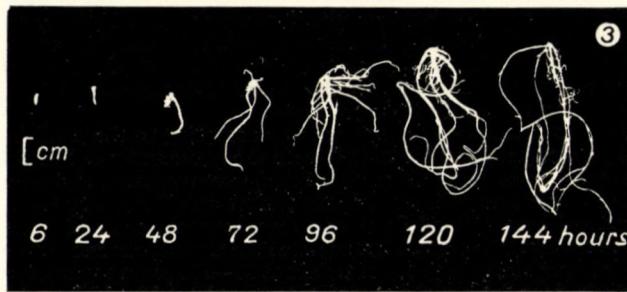


Fig. 3. Root of bean seedling swelling after culture of 1, 2, 3, 4, 5, 6 days

other, we desired to observe the effect of the possible starvation after the loss of the cotyledons on the root and on the shoot.

In order to control the growth and development, as well as the nucleic acid synthesis and the translocation of the material we have effected a cell count on the one hand, and on the other we have determined the dry matter and phosphorus content. The shoot and the root

of the seedling were analysed separately. Having in mind certain considerations arising from our earlier investigations [17, 18, 19], and with a view to comparing the results of the different experiments, we have studied the part of the shoot without primary leaf situated above the cotyledons (Figs. 1, 2). For the root we have examined the 1/2 cm long section measured after treatment, respectively, the growth every 24 hours of these 1/2 cm long sections which after treatment were marked with black India ink (Figs. 3, 4). The cotyledons usually remained on the seedlings until the fourth day, and dropped afterwards. The primary leaves, in spite of the fact that the plants were lighted, did not turn completely green, they remained only yellowish-green.

The cell counts were made on the basis of the well-known method of BROWN [2] with the modification that we employed a shaking machine for the maceration of the organs. The cell count was made according to the method used for the determination of blood cells with a spore meter.

In the cell count efforts must be made to obtain a large number of experimental data appropriate for statistical evaluation also [11].

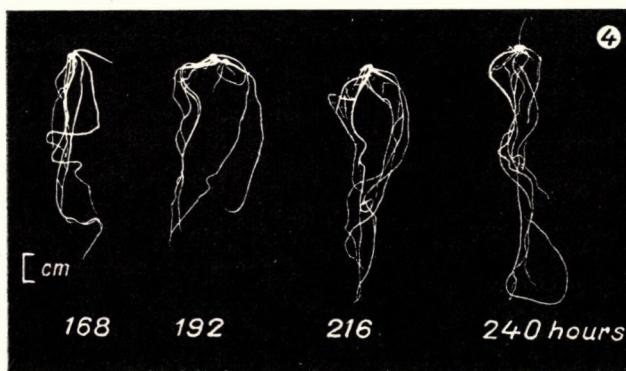


Fig. 4. Root of bean seedling after culture of 7, 8, 9, 10 days

We have taken this principle into consideration. For each analysis we have macerated ten roots and shoots in four repeats, thus on each occasion we have examined about 50 plant organs (in five containers). Each datum was derived from the assessment of about 10 000 cells. The values published are mean values. The examinations were always made by the same person, in the same hour of the day, with a Zeiss LgO microscope with 15 K oculars and 40  $\times$  objective.

For the determination of the total phosphorus and of the single fractions the seedlings were cultured under the same conditions as for the cell count examinations. The analyses were effected, in these cases also, separately for each organ.

The phosphorus was determined photometrically according to the modified procedure of TAYLOR and MILLER [24], respectively ROTH [21] with the photometer of Pulfrich. The nucleic acid and its fractions (ribo- and deoxyribonucleic acids) were measured and calculated, respectively, according to the procedure of LAVIB, HARRINGTON and BUCKALOO [15].

The data presented here derived from two measurements each of three parallel sets, from the mean value of six measurements. The results of the single measurements were evaluated statistically. For the data pertaining to the root tip about 90—100 plant organs, for those pertaining to the shoot 15—20 and for those of the complete roots at least 10—15 have been elaborated.

The fresh weight of the organs as well as the determination of their dry matter content are the results of the mean of 4—5 measurements.

The data were computed for the organs separately in addition, in the phosphorus analysis they were also expressed as percentages of the dry matter.

### Experimental results

In Table 1 are summed up the cell number changes for the root and the shoot.

It was found that the total cell number of the shoot shows a steady increase in the course of the experiment. On the fourth day, while the cotyledons were still on the plant, it increased to four times its initial total number. On the 9th day of the experiment the increase of the initial cell number is about twenty-fourfold. The number of meristematic cells increases notably only after the loss of the cotyledons. Also vacuolation (the differentiation of cells) intensifies from that time on. The percentile equality, referred to total cells, of vacuolated and meristematic cells, which is one of the criteria of the speed of differentiation, sets in on the third day [2].

Already about the fourth day the root attains the highest cell number which will hardly vary essentially. This number approximates the decuple of the initial total cells. The number of meristematic cells increases by the fourth day to its quadruple, and decreases subsequently to about the original number. The rate of differentiation is here considerably greater, because after the first day the numerical equality of meristematic and vacuolated cells sets in.

Until the cotyledons begin to function, i. e. until the fourth day, the computed values of the rate of the cell division of organs, which values indicate the mitoses falling on an average to one meristematic cell, differ considerably. This value which is the quotient of the difference in the total cell number ascertained at the outset and at the end of the experimental period under review, and of the mean value of the meristematic cells added up in the same two periods, was of the order of 3,7 for the root and of 2,8 for the shoot [2]. Thus during the first four days of the experimental period one more division falls on an average to one meristematic cell of the root than to the similar cell of the shoot. By the sixth day when the cotyledons are not present on the seedling any longer, but — seeing that the shoot is yellowish green — an assimilation of a certain degree may already be in progress, this computed value is about equal in both organs, that is to say about 7,5.

The total phosphorus and nucleic acid (NA—P) of both organs also show a divergent picture, as illustrated in Table 2. It is interesting to note that the pertaining results of the analysis effected after the six-hour treatment, show greater values for both the shoot and the root — but mainly for the latter — than the data for the organs of the one day old seedlings. This is particularly striking for the root in the case of the total P, NA—P and DNA—P wherein this decrease is about 50 per cent or even greater. From this phenomenon it may be concluded that the translocation of the above-mentioned materials ensues rapidly.

Table 1

Change of the cell number of the shoot and root of the bean seedling (*Phaseolus vulgaris* »Cukorpaszuly«) in the function of time. ( $\bar{x}$ —mean value, s—divergence of measurement data, S. E.—error of mean value [standard error])

Time in days	Organ	Total number of cells			Number of meristematic cells			Number of vacuolated cells			Per cent of the mean value of meristematic cells referred to total cells
		$\bar{x} \cdot 10^3$	s.	S. E.	$\bar{x} \cdot 10^3$	s.	S. E.	$\bar{x} \cdot 10^3$	s.	S. E.	
After swelling	Shoot	66	$\pm 6$	3	66	$\pm 6$	3	—	—	—	100
	Root	145	$\pm 6$	3	145	$\pm 6$	3	—	—	—	100
1	Shoot	80	$\pm 3$	1	76	$\pm 3$	2	4	$\pm 0,01$	0,004	95
	Root	188	$\pm 3$	1	106	$\pm 6$	3	82	$\pm 3,0$	1,0	56
2	Shoot	104	$\pm 5$	2	72	$\pm 5$	2	31	$\pm 0,9$	0,4	70
	Root	291	$\pm 20$	9	134	$\pm 18$	1	157	$\pm 8,0$	3,0	46
3	Shoot	193	$\pm 17$	8	86	$\pm 23$	10	106	$\pm 10,0$	5,0	45
	Root	654	$\pm 43$	19	199	$\pm 15$	7	455	$\pm 19,0$	8,0	30
4	Shoot	265	$\pm 13$	6	75	$\pm 7$	3	190	$\pm 10,0$	5,0	28
	Root	1397	$\pm 109$	49	546	$\pm 10$	5	851	$\pm 7,0$	4,0	39
5	Shoot	281	$\pm 15$	7	133	$\pm 26$	12	148	$\pm 21,0$	1,0	47
	Root	1316	$\pm 6$	3	461	$\pm 2$	1	855	$\pm 36,0$	16,0	35
6	Shoot	431	$\pm 12$	5	—	$\pm 10$	—	—	$\pm 5,0$	—	—
	Root	1451	$\pm 5$	2	421	$\pm 10$	4	1030	$\pm 2,0$	—	29
7	Shoot	808	$\pm 30$	13	167	$\pm 15$	7	641	$\pm 55,0$	24,0	20
	Root	1325	$\pm 5$	2	364	$\pm 6$	3	962	$\pm 12,0$	6,0	27
8	Shoot	1383	$\pm 60$	27	222	$\pm 31$	14	1160	$\pm 31,0$	14,0	16
	Root	1298	$\pm 112$	50	130	$\pm 9$	4	1169	$\pm 34,0$	15,0	10
9	Shoot	1595	$\pm 130$	58	337	$\pm 100$	28	1258	$\pm 165,0$	74,0	21
	Root	1324	$\pm 51$	23	168	$\pm 27$	12	1150	$\pm 25,0$	11,0	13

Table 2

The change of the NA—P, RNA—P, DNA—P and total P content of the shoot and root of the bean seedling (*Phaseolus vulgaris* „Cukorpaszuly") in the function of time  
 (— mean value, s. — divergence of measurement values, S. E. — error of mean value. Computed values of DNA—P and total-P)

Time in days	Organ	NA—P $\gamma/1$ organ			RNA—P $\gamma/1$ organ			DNA—P $\gamma/1$ organ	Total-P $\gamma/1$ organ
		$\bar{x}$	s.	S. E.	$\bar{x}$	s.	S. E.		
After swelling	Shoot	2,0	± 0,1	0,03	1,9	± 0,02	0,01	0,1	5,2
	Root	9,6	± 0,2	0,1	6,6	± 0,2	0,1	3,0	23,8
1	Shoot	2,0	± 0,2	0,1	1,1	± 0,1	0,03	0,9	4,9
	Root	5,1	± 0,6	0,2	4,2	± 0,3	0,2	0,9	10,7
2	Shoot	5,5	± 0,2	0,1	4,4	± 0,3	0,1	1,1	12,9
	Root	12,8	± 1,8	0,5	6,5	± 1,4	0,7	3,3	44,0
3	Shoot	7,4	± 0,4	0,1	4,3	± 0,7	0,3	3,1	17,4
	Root	31,5	± 3,1	1,5	20,5	± 2,5	1,0	11,0	100,3
4	Shoot	10,2	± 0,8	0,4	4,3	± 1,4	0,8	4,9	21,3
	Root	36,2	± 4,4	2,0	26,1	± 2,2	1,0	10,1	131,0
5	Shoot	12,6	± 0,6	0,3	7,7	± 0,9	0,5	4,9	36,6
	Root	60,2	± 6,5	2,7	29,8	± 3,1	1,2	30,5	262,7
6	Shoot	18,7	± 2,3	0,9	12,9	± 0,8	0,4	5,8	43,6
	Root	67,7	± 14,6	8,4	39,5	± 4,7	2,7	28,3	369,4
7	Shoot	22,9	± 2,0	0,9	15,9	± 0,9	0,3	7,0	64,3
	Root	—	—	—	—	—	—	—	—
8	Shoot	29,6	± 2,4	1,0	18,6	± 0,9	0,4	11,0	94,0
	Root	71,7	± 6,0	2,6	58,6	± 4,8	2,0	13,1	470,1
9	Shoot	31,5	± 4,3	1,7	24,0	± 4,1	1,9	7,5	105,4
	Root	82,3	± 27,8	11,3	79,1	± 10,1	5,0	3,2	627,4

The total P-content of the shoot calculated for one organ steadily increases from the first day on, by the fourth day it attains the quadruple of its original weight and by the ninth day about its twentyfold. In the root, on the above-mentioned days, this ratio is the twelvefold, respectively, about its sixtyfold.

On the fourth day the NA—P values in the root were about seven times their initial value (5,1); while on the ninth day they were about sixteen times the initial values. For the shoot the ratio is only quintuple on the fourth day, whereas it is similarly about sixteenfold at the end of the experiment. A similar tendency is shown by the ribonucleic acid and partly also by the desoxyribonucleic acid. That is to say that on the fourth day, as compared to the first, while the cotyledons are still present on the seedling, the proportional growth of the nucleic acid—phosphorus content in the root is always greater than in the shoot. By the end of the experiment, however, roughly similar growth conditions

prevail in both organs. This equalization of the ratio means the decrease of the NA—P materials of the root. This decrease can supposedly be brought into connection with the translocation of the NA—P materials — presumably broken up into their constituents — from the root into the shoot or at least with their transformation.

The RNA—P content attains its maximum value for both organs at the end of the experiment (ninth day), while the DNA—P shows the highest values for the root on the fifth day whereafter it decreases, which in the shoot takes place on the eighth day.

This distribution of the nucleic acids is fairly supported by the cell count data, because the results of the first four days showed a more substantial cell growth and a greater intensity of differentiation for the root; on the other hand on the ninth day, at the end of the experiment, the cell number conditions of the shoot would appear to be more favourable.

When comparing the fresh weight of the organs of seedlings and the increase of their dry matter, it appears that both in the shoot and in the root, a consistent increase can be observed (Table 3). Also here the peculiar feature may be observed that on the first four days the growth rate, referred to both organs separately, is relatively slower in the shoot than in the root. From the fifth day on it becomes about the same for both, seeing that the more intense growth starts in the shoot. Throughout the whole experiment the dry matter content expressed as a percentage of fresh weight is more favourable for the shoot, and this observation is well in agreement with the results of our earlier experiments [20].

The NA—P content in terms of dry matter percentage shows a fairly similar picture throughout the experiment. The NA—P quota in the dry matter content is somewhat larger in the shoot than in the root, inasmuch as it varies between 2 to 9 per cent in the former and between 2 to 5 per cent in the latter. Since the data for both organs almost tally on the first four days and the percentile quota decreases only latterly in the root, it would seem that the translocation of the material into the shoot apex must be held responsible for this phenomenon, which, even despite the already starting — though presumably slight degree of — assimilation, is able to show an increase of material with the help of the root only, as it is also confirmed by experiments of several authors [10, 14]. The NA—P-content referred to one cell of the organs is usually more favourable in the root. During treatment the NA—P content in one root cell is twice as much as in the shoot. Later it is usually the same then, after the fourth day, it increases. At the end of the experiment the nucleic acid quota in one root cell is three times as much as in the shoot. This observation, similar to one which has been made in our earlier experiments, shows then — according to our assumption — that the root cells are a more intense synthetizing site for NA than the cells of the shoot.

Table 3

Change in the fresh weight, dry matter content as well as in the NA—P ratio computed for one cell of the shoot and the root of the bean seedling (*Phaseolus vulgaris*, „Cukorpaszuly") in the function of time

( $\bar{x}$  — mean value,  $s.$  — divergence of measurement data, S. E. — error of mean value [standard error])

Time in days	Organ	Fresh weight mg/l organ			Dry weight mg/l organ			Dry matter content as per cent of the fresh weight	NA—P as per cent of the dry matter content	NA—P ratio computed for one cell; shoot : root
		$\bar{x}$	$s.$	S. E.	$\bar{x}$	$s.$	S. E.			
After swell- ing	Shoot	1,2	$\pm$ 0,01	0,1	0,5	$\pm$ 0,01	0,003	42	0,4	1 : 2,2
	Root	10,5	$\pm$ 1,9	0,8	3,1	$\pm$ 0,2	0,1	30	0,3	
1	Shoot	2,3	$\pm$ 0,2	0,1	0,6	$\pm$ 0,02	0,01	25	0,3	1 : 1
	Root	10,5	$\pm$ 0,7	0,3	1,1	$\pm$ 0,1	0,04	10	0,5	
2	Shoot	6,9	$\pm$ 1,0	0,5	0,9	$\pm$ 0,02	0,01	13	0,6	1 : 0,8
	Root	36,4	$\pm$ 3,1	1,6	2,5	$\pm$ 0,2	0,1	7	0,5	
3	Shoot	11,4	$\pm$ 0,3	0,1	1,5	$\pm$ 0,01	0,005	13	0,5	1 : 1,3
	Root	257,0	$\pm$ 29,6	13,3	19,0	$\pm$ 1,3	0,8	7	0,2	
4	Shoot	14,6	$\pm$ 0,3	0,1	2,1	$\pm$ 0,1	0,05	14	0,5	1 : 0,7
	Root	305,0	$\pm$ 30,1	14,1	23,0	$\pm$ 0,2	0,1	7	0,2	
5	Shoot	24,4	$\pm$ 0,7	0,3	2,9	$\pm$ 0,3	0,8	12	0,4	1 : 1
	Root	401,0	$\pm$ 40,2	18,1	22,0	$\pm$ 0,8	0,6	6	0,3	
6	Shoot	27,3	$\pm$ 3,8	1,7	3,5	$\pm$ 0,01	0,005	13	0,5	1 : 1,1
	Root	539,0	$\pm$ 71,2	32,1	35,0	$\pm$ 0,6	0,4	6	0,2	
7	Shoot	35,3	$\pm$ 3,2	1,4	3,1	$\pm$ 0,4	0,2	9	0,9	
	Root	—	—	—	—	—	—	—	—	
8	Shoot	93,7	$\pm$ 8,8	3,9	6,8	$\pm$ 0,7	0,2	7	0,4	1 : 2,5
	Root	446,0	$\pm$ 116,1	52,0	29,0	$\pm$ 8,4	3,8	6	0,2	
9	Shoot	130,5	$\pm$ 21,4	9,5	14,4	$\pm$ 4,4	2,0	11	0,2	1 : 3,1
	Root	646,0	$\pm$ 91,1	40,0	45,0	$\pm$ 6,0	2,7	7	0,2	

### Discussion

While a certain synthetizing power of the shoot has gained recognition, increasingly more experimental data argue in favour of the assumption that the young meristematic zones of the root synthetize NA—P more intensely than the corresponding sites in the shoot [18, 19]. DE ROPP has demonstrated that the root is definitely necessary for the development of the shoot [7, 8, 9]. Moreover it was also proved that in case of starvation, due to the removal of the cotyledon, the relations of nucleic acid and cell division are more unfav-

vourable in the root than in the shoot, because it is the root that transmits the nucleic acids to the shoot [14].

It is presumable that if the shoot could synthetize a sufficient quantity of material, it would, after exhausting the material of the cotyledon, show a uniform cell growth and accumulation of material, particularly if it disposes — although even in a small degree — of the ability of assimilation. If, however, this synthetizing power does not suffice, with the loss of cotyledons the rate of division and the increase of material in the shoot also change. This change must also manifest itself in the rate of development of the root, even if the assumption of KONAREV [14] is correct, according to which, in case of starvation, the nucleic acid materials of the root are translocated into the shoot and it is the shoot that lives longest among the plant organs.

The experimental results show that there are noteworthy differences between the cell growth of roots and of shoots. This difference is particularly notable in the presence of the cotyledons, on the first four days of the experiment. During this time the ratio of the total cell growth is considerably larger in the root. The production of cells was ten times that of the initial cell number, while in the shoot it was only the quadruple. This more intense metabolism is also expressed by the speed of division of the cells computed for this period, which indicates one more mitosis for every meristematic cell of the root than for the shoot. The rate of differentiation is also greater in the root because the numerical equality of meristematic and vacuolated cells sets in immediately after the first day, while in the shoot it sets in only about the third day. Both the rate of the speed of division and of differentiation indicate a more intense metabolism of the organs [2, 17, 18, 22].

After the fourth day, when the cotyledon was not present on the seedling any more, the cell growth ceased in the root, because neither the material of the cotyledon nor other nutritive matter was available. On the other hand the cells of the shoot began to grow intensely after the fourth day. By the end of the experiment the values for the speed of cell division, computed for the duration of the experiment, became equal for both organs, i. e. the same number of division fell to each meristematic cell of both the root and the shoot. This equalization can be interpreted so that as long as the cotyledon was present both organs were able to increase without limitation in respect to cell number, and their cells could differentiate. During this time the root showed a considerably more intense metabolism than the shoot. After the exhaustion of the cotyledon the metabolism of the root becomes slower and thus cell growth ceases because the nutritive matter, presumably the constituents of nucleic acids, pass into the shoot, as it has been proved by KONAREV [14], and with their help, as well as by means of assimilation, a more intense cell growth starts also in the shoot. In our examinations concerned with the independent NA synthesis of roots and shoots we came to the conclusion that the isolated organs of the shoot are hardly

able to synthesize NA, whereas the root is capable of it. In an intact plant, however, the constituents of nucleic acids can pass from the root into the shoot by means of translocation.

The total P and NA—P conditions computed for the shoot and root organ also lend support to our conception about the developmental conditions of the organs of seedlings. Similarly to the cell count, the phosphorus distribution shows that until the fourth day the phosphorus proportions computed for each organ are more favourable for the root than for the shoot. After the fourth day the ratio of growth is equal for both organs. The distribution of fresh weight and that of dry matter content computed to the organ show a similar picture.

In the first part of the experiment (for four days) the distribution of NA—P in terms of a percentage of the dry matter content is equally proportioned for both plant organs. After the fifth day the ratio decreases in the root, which can be brought again into connection with the translocation of the material into the shoot.

The NA—P content computed for one cell of the organs usually tallies in the two organs, or is rather more favourable for the root. This observation agrees with our earlier ones made likewise on bean seedlings [18], and confirms the assumed synthesizing power of the root, furthermore it also corroborates the possibility of the translocation of material from the root into the shoot.

#### REFERENCES

1. BRACHET, J. (1950) Chemical embryology. Interscience Publishers, New York.
2. BROWN, R. (1951) The effects of temperature on the durations of different stages of cell division in the root-tip. *J. Exp. Bot.*, **2**, 96—110.
3. BROWN, R., REITH, W. S., ROBINSON, E. (1952) The mechanism of plant cell growth. *Symp. Soc. Exp. Biol.*, **6**, 329—347.
4. BROWN, R., WHITCHMAN, F. (1952) The influence of mature tissues on the division in the meristem of the root. *J. Exp. Bot.*, **3**, 253—263.
5. BURSTRÖM, H. (1953) Physiology of root growth. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **4**, 237—252.
6. CASPERSSON, T. O. (1950) Cell growth and cell function. Norton, New York.
7. DE ROPP, R. S. (1945) Studies in the physiology of leaf growth. I. The effect of various accessory growth factors on the growth of the first leaf of isolated stem tips of rye. *Ann. Bot.*, **9**, 369—381.
8. DE ROPP, R. (1946) Studies in the physiology of leaf growth. II. Growth and structure of the first leaf of rye when cultivated in isolation or attached to the intact plant. *Ann. Bot.*, **10**, 31—40.
9. DE ROPP, R. (1946) Studies in the physiology of leaf growth. III. The influence of roots on the growth of leaves and stems in rye. *Ann. Bot.*, **10**, 359—363.
10. FRIES, N. (1953) Limiting factors in the growth of the pea seedling root. *Physiol. Plant.*, **6**, 292—300.
11. HARTE, C. (1950) Die Anwendung der Varianzanalyse bei der Auswertung zytologischer Untersuchungen. *Chromosoma*, **3**, 567—585.
12. HOLMES, B. E., MEE, L. K., HORNSEY, S., GRAY, L. H. (1955) The nucleic acid content of cells in the meristematic elongating and fully elongated segments of roots in *Vicia faba*. *Exp. Cell Res.*, **8**, 101—113.
13. HOWARD, A., PELC, S. R. (1951) Synthesis of nucleoprotein in root cells. *Nature*, **167**, 599—600.
14. Конарев, В. Г. (1953) О поведении нуклеиновых кислот и растений в условиях голодного обмена. *Докл. Акад. Наук СССР*, **89**, 551—554.

15. LAVIB, P. S., HARRINGTON, H., BUCKALOO, G. W. (1953) Adaptation of a filtration technique to the fractionation of tissue phosphorus compounds in  $P^{32}$  studies. *Western Res. Univ. Atomic Energy Res. Project NYO—1625*. 1951, 255.
16. Loo, Sh. W. (1945) Cultivation of excised stem tips of *Asparagus* in vitro. *Amer. J. Bot.*, **32**, 13—17.
17. РОТАРОВ, Н. Г., МАРОТИ, М. (1954) A bab gyökér és szármerisztéma sejtjei növekedésének és osztódásának sajátosságai. Eigentümlichkeiten im Wachstum und Teilung der Meristemzellen der Wurzeln und Spross bei der Fisole. *Ann. Biol. Univ. Hung.*, **2**, 107—114. (In Hungarian, with German summary.)
18. РОТАРОВ, Н. Г., МАРОТИ, М. (1956) Vergleichende Untersuchung der Meristeme von Wurzel- und Sprossspitze an Bohnenkeimlingen. *Acta Bot. Hung.*, **2**, 365—376.
19. РОТАРОВ, Н. Г., МАРОТИ, М. (1956) Die Synthese der Nukleinphosphorsäure in der Wurzel und im Spross von Bohnenkeimlingen. *Acta Bot. Hung.*, **2**, 377—390.
20. ROBINSON, E., BROWN, R. (1952) The development of the enzyme complement in the growing root cells. *J. Exp. Bot.*, **3**, 356—374.
21. ROTH, H. (1944) Über Neuerungen in der mikroanalytischen Praxis. *Mikrochemie*, **31**, 287—295.
22. SEGELITZ, G. (1938) Der Einfluss von Licht und Dunkelheit auf Wurzelbildung und Wurzelwachstum. *Planta*, **28**, 617—643.
23. STEWARD, F. C., WETMORE, R. H., THOMPSON, J. P. (1954) A quantitative chromatographic study of nitrogenous components of shoot apices. *Amer. J. Bot.*, **41**, 123—134.
24. TAYLOR, A. E., MILLER, C. W. (1914) On the estimation of phosphorus in biological material. *J. Biol. Chem.*, **18**, 215—231.

#### ИЗМЕНЕНИЕ ЧИСЛА КЛЕТОК И СОДЕРЖАНИЯ НУКЛЕИНОВОЙ КИСЛОТЫ В ПРОРОСТКАХ ФАСОЛИ

Исходя из того соображения, что корень проростках способен к более интенсивному синтезу нуклеиновой кислоты, чем побег, автор сопоставил повышение общего числа клеток корня и побега проростках фасоли, выращенного в дистиллированной воде, а также изменение содержания сухого вещества и фосфора нуклеиновой кислоты в упомянутых органах, в первые 9 дней развития зародышевого растения.

Из полученных экспериментальных данных автор устанавливает, — подтверждая свои прежние результаты, — что в корнях проростка, обладающего семядолями, условия повышения числа клеток гораздо благоприятнее, скорость деления и темп дифференциации клеток гораздо интенсивнее, чем в побеге без настоящих листьев. Повышение числа клеток корней равняется к концу четвертого дня десятикратному, а в побеге — четырехкратному количеству. Вычисленная величина скорости деления в корнях — 3,7, а в побеге — 2,8. Дифференциация клеток происходит в корнях примерно на один день раньше, чем в побегах. После истощения семядолей в побеге проростка, выращенного в дистиллированной воде, величина повышения клеток достигает, и даже превышает величину повышения клеток в корнях. Данное явление автор приводит в связь с передвижением веществ из корней в побеги. Распределение общего фосфора и фосфора нуклеиновой кислоты, наблюдаемое в корне и побеге проростка, показывает хорошее совпадение с изменениями числа клеток, и подтверждает предположенный автором более интенсивный обмен веществ в корнях. Вычисленные на отдельные органы (или же на отдельные клетки последних) величины нуклеинфосфорной кислоты — в полном согласии с прежними результатами автора — подтверждают соображение, согласно которому в корнях происходит более интенсивный синтез нуклеиновых кислот, чем в побегах, однако, при определенных условиях, — как, например, в случае голодания, — нуклеиновые вещества, или строительные вещества последних, поступают в побеги, как это доказывается также и экспериментальными данными *Конарева*.

#### ÄNDERUNGEN IN DER ZELLENZAHL UND IN DEN NUKLEINSÄURENGEHALT DER KEIMPFLANZE

Von der Erkenntnis ausgehend, dass das Wurzelsystem der Keimpflanze zu einer intensiveren Nukleinsäurensynthese fähig ist als der Sprössling, verglichen wir in unseren Experimenten — in den ersten 9 Tagen der Entwicklung — die Vermehrung der Zellenzahl in der Wurzel und im Sprössling der in destilliertem Wasser gezüchteten Bohnenkeimflanze, sowie die Veränderungen in dem Trockensubstanz- und Nukleinsäurenphosphorgehalt dieser Organe.

In Bestätigung der früheren Angaben konnten wir aus den Versuchsergebnissen feststellen, dass in der Wurzel der mit Keimblättern versehenen Keimpflanze die Bedingungen für die Zellvermehrung bedeutend günstiger, die Teilungsgeschwindigkeit und das Tempo der Zell-differenzierung intensiver sind als in dem Sprössling ohne primären Laubblätter. Die Zellvermehrung der Wurzel beträgt am Ende des 4. Tages das Zehnfache, die des Sprösslings das Vierfache. Der bedeutendste Wert der Teilungsgeschwindigkeit beträgt in der Wurzel 3,7, in dem Sprössling hingegen 2,8. Die Differenzierung der Wurzelzellen erfolgt ungefähr um einen Tag schneller als die der Sprösslingszellen. Nach Erschöpfung des Keimblattes erreichen und überschreiten die Zahlverhältnisse der Zellvermehrung im Sprössling der in der destillierten Wasser-kultur gehaltenen Keimpflanze, die der Wurzel, eine Erscheinung, die mit der aus der Wurzel in den Sprössling erfolgten Stoffwanderung in Zusammenhang gebracht wurde. Die in der Wurzel und in dem Sprössling der Keimpflanze beobachtete Verteilung des Gesamtphosphors und des Nukleinsäurenphosphors stimmt mit den Veränderungen in der Zellanzahl gut überein und bestätigt unsere Annahme bezüglich des intensiveren Stoffwechsels der Wurzel. Die im Einklang mit den früheren Ergebnissen für die einzelnen Organe bzw. für je eine Zelle errechneten NS—P-Werte, bestätigen unsere Annahme, wonach die Wurzel zu einer intensiveren Synthese der Nukleinsäure fähig ist als der Sprössling. Unter gewissen Umständen, so z. B. im Falle von Hunger, wandern die Nukleinstoffe oder deren Präkursoren in den Sprössling, wie dies auch durch die Versuche von KONAREW bestätigt wird.

MIHÁLY MARÓTI, Budapest, VIII., Múzeum krt 4/a. Hungary.



# BEITRÄGE ZUR FRAGE DER ORGANISIERUNG DER BLATTEPIDERMIS BEI ALLIUM CEPA L.

L. FRIDVALSZKY

INSTITUT FÜR ANGEWANDTE BOTANIK UND HISTOGENETIK DER EÖTVÖS LORÁND UNIVERSITÄT,  
BUDAPEST (VORSTAND: S. SÁRKÁNY)

(Eingegangen am 10. September 1955)

## Zusammenfassung

Bei der Organisierung der Keimblatt- und Laubblatt-Epidermis von *Allium cepa* L. bilden sich im sich differenzierenden Protoderma, auf ganz anomale Weise, unmittelbar hintereinander, häufig zwei, seltener drei oder gar vier Kurzzellen, die als Stoma-Mutterzellen in Erscheinung treten. Tatsächlich erweist sich jedoch nur die erste, der Spitze zu fallende Kurzzelle stets als Stoma-Mutterzelle, die zweite teilt sich in einem Teil der Fälle nicht in Schließzellen, sondern entwickelt sich zu einer normalen Epidermiszelle. Dieses abweichende Verhalten der zweiten Kurzzelle kann mit den Umständen ihrer Entwicklung erklärt werden. In einem Fall schnürt sie sich nämlich als apikale Zelle von einer Protoderma-Zelle ab, in dem anderen entsteht sie jedoch als Basalzelle, bei der anomalen, mit Querwand vor sich gehenden Teilung einer Stoma-Mutterzelle. In der normalen Entwicklung des differenzierenden Protodermas erscheint es, infolge der Polarität der Zellen, als allgemein gültige Gesetzmässigkeit, dass die im Laufe der inäqualen Teilung entstandene Spitzenzelle meristematisch, die Basalzelle hingegen zur Teilung gewöhnlich unfähig ist. Diese Gesetzmässigkeit kann auch im Laufe der anomalen Differenzierung beobachtet werden. Die im ersten Fall entstandene Kurzzelle entwickelt sich zu einer meristematischen Stoma-Mutterzelle, während sich die im zweiten Fall entstehende Kurzzelle zu einer Epidermiszelle differenziert. In der letzten Erscheinung ist ein Beweis für die Polarität der Stoma-Mutterzelle zu sehen. Mit der Polarität der Stoma-Mutterzelle steht wahrscheinlich auch der Umstand in Verbindung, dass sich bei der Entstehung der normalen Schließzellen die Kernspindel wendet und die entstehende Zellwand sich parallel mit der Längsachse des Blattes, in der Richtung der Polarität entwickelt. Infolge der Polarität der Zelle können sich nämlich nur auf diese Weise zwei gleichwertige Zellen bilden.

## Einleitung

In dem Differenzierungsprozess der Zellen und Gewebe spielt die Zellteilung eine entscheidende Rolle. Die Ergebnisse der neuen Forschungen bezüglich der Ursachen dieser Organisierung beweisen vor allem, dass die Entstehung der verschiedenen Zelltypen sehr häufig auf eine inäquale Zellteilung zurückgeführt werden kann [1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12]. Auch die in vorliegender Arbeit beschriebenen Untersuchungen beschäftigen sich mit solch einem bestimmten Vorgang in der Organisierung der Blattepidermis, bei dem der äquale bzw. inäquale Charakter der Mitosen als entscheidender Faktor zur Geltung kommt.

Bei *Allium cepa* L. wird die Epidermis des Keim- und Laubblattes, in entwickeltem Zustand, von lang gezogenen Epidermis-Zellen und Stomen gebildet, die, ähnlich der Blattepidermis vieler anderer einkeimblättriger Pflanzen, in Reihen, entlang der Längsachse des Blattes angeordnet sind. In jeder

Längsreihe folgen die Epidermis-Zellen und Stomen abwechselnd aufeinander. Die Differenzierung der Epidermis erfolgt auf die Weise, dass sich die Zellen des den basalen Teil des Blattes deckenden Protodermas in der Richtung der Längsachse des Blattes verlängern und sich dann mit einer darauf senkrechten Zellwand inäqual teilen [3, 4, 7, 11]. Als Resultat der inäqualen Teilung entstehen aus den Protoderma-Zellen zwei, sowohl in morphologischer als auch in physiologischer Hinsicht verschiedene Zellen (Abb. 1). Der längere, an Zytosplasma verhältnismässig ärmere Zellkern der Basalzelle färbt sich blasser und

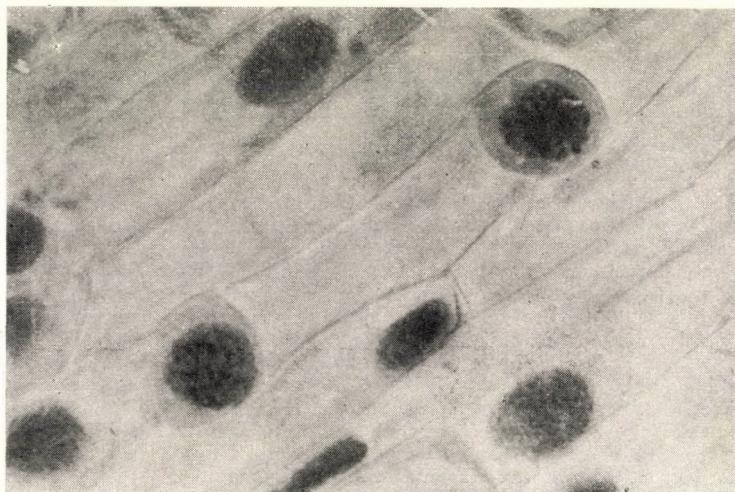


Fig. 1. Erklärung im Text. (Obj.: 8 mm Apo; Ok.: 10 Peripl.)

teilt sich — unter normalen Umständen — im weiteren Verlauf schon nicht mehr. Aus diesem Zellkern entwickelt sich eine Epidermis-Zelle. Hingegen ist die der Spitze zu abgeschnürte Zelle eine kurze, an Zytosplasma reichere Stoma-Mutterzelle meristematischen Charakters, mit stark färbendem Zellkern [4]. Die Stoma-Mutterzelle teilt sich im weiteren Verlauf der Entwicklung noch einmal und bildet die beiden Schliesszellen [7, 11]. Diese neue Teilung der Stoma-Mutterzelle ist aber bereits äqualer Art und die entstandene neue Zellwand verläuft parallel mit der Längsachse des Blattes. Die äquale Teilung der Stoma-Mutterzelle erfolgt also in senkrechter Richtung auf die inäquale Teilung der protodermalen Zelle.

Abweichend vom Normalzustand sind manchmal zwei Stomen unmittelbar hintereinander gelagert (Abb. 2). Seltener ist auch eine aus drei, sogar vier Gliedern bestehende Stomareihe anzutreffen. Diese Anomalie kann darauf zurückgeführt werden, dass in der sich differenzierenden Epidermis auch Stoma-Mutterzellen in ähnlicher Anordnung vorkommen (Abb. 3). Von einer zweifachen Stoma-, bzw. Stoma-Mutterzellenbildung berichteten BÜNNING und

BIEGERT [4]. Die genannten Autoren stellten diesbezüglich fest, dass der inäquale Teilung der protodermalen Zellen in solchen Fällen eine neuere ähnliche



Fig. 2. Erklärung im Text. (Obj.: 8 mm Apo; Ok.: 10 Peripl.)



Fig. 3. Erklärung im Text. (Obj: 8 mm Apo; Ok.: 10 Peripl.)

inäquale Teilung der Basalzelle folgt, was zur Folge hat, dass sich unmittelbar hintereinander zwei kurze Stoma-Mutterzellen bilden.

Unsere Beobachtungen bezüglich der Organisierung der Epidermis wiesen schon von Anfang an darauf hin, dass von den in der sich differenzierenden

Epidermis, auf anomale Weise unmittelbar hintereinander gelagerten Kurzzellen, die zweite (Basalzelle) auf verschiedene Weise entstehen kann und sich dementsprechend im Laufe der weiteren Entwicklung anders verhält. Vorliegende Arbeit wünscht sich mit der Klärung dieser Frage zu beschäftigen.

#### Material und Methode

Die Untersuchungen wurden an der sich differenzierenden Epidermis des Keimblattes und Laubblattes von *Allium cepa* L. (Zittauer Art) durchgeführt, und zwar teils an lebenden bzw. in Karminessigsäure fixierten und gefärbten frischen Präparaten, teils an in Bouin-Flüssigkeit fixiertem und mit Karmin oder Gentiana-Violett gefärbtem Versuchsmaterial. Da unsere Untersuchungen sowohl beim Keimblatt als auch beim Laubblatt zu gleichen Ergebnissen führten, besteht keine Notwendigkeit die Versuche gesondert zu beschreiben. Die Mikrophotographien wurden von Präparaten von Keimblättern aufgenommen.

#### Ergebnisse

Wie wir sahen, sind in dem Protoderma unmittelbar hintereinander gelagerte Kurzzellen (Abb. 3) anzutreffen, aus denen sich ein Doppelstoma bilden

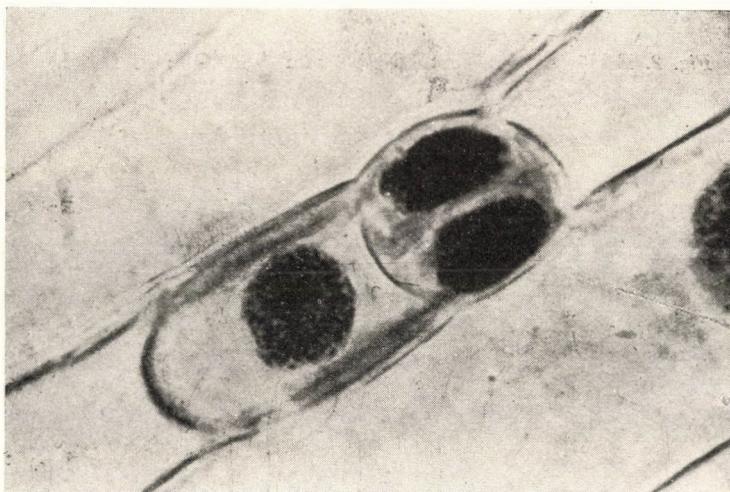


Fig. 4. Erklärung im Text. (Obj.: 8 mm Apo; Ok.: 10 Peripl.)

kann (Abb. 2). Von den beiden Kurzzellen entwickelt sich jedoch — unseren Beobachtungen nach — nur aus der ersten, der Blattspitze zu fallenden apikalen Zelle, in jedem Falle ein Stoma, während sich die zweite, basale Zelle, in einem Teil der Fälle, allmählich zu einer normalen Epidermis-Zelle verlängert (Abb. 4). Diese Erfahrung weist darauf hin, dass die Glieder der Kurzzellen-Paare in gewissen Fällen gleich-, manchmal jedoch verschiedenwertig sind.

Die weitere Klärung der Frage liess es angebracht erscheinen, die Entstehung der zweiten Kurzzelle zu studieren. Im Laufe der Untersuchung konnte

festgestellt werden, dass sich das Basalglied der Kurzzellen-Paare auf zweierlei Art bilden kann.

Wie bereits BÜNNING und BIEGERT [4] feststellten und in der Einleitung vorliegender Arbeit erwähnt wurde, teilt sich in einem Fall — nach der inäqualen Teilung der Protoderma-Zelle — die basal gelagerte grössere Zelle, die sich unter normalen Umständen bereits ohne neuere Teilung zu einer Epidermis-Zelle entwickeln würde, neuerdings auf inäquale Weise.

Im zweiten Fall teilt sich die Stoma-Mutterzelle, doch nicht normal d. h.

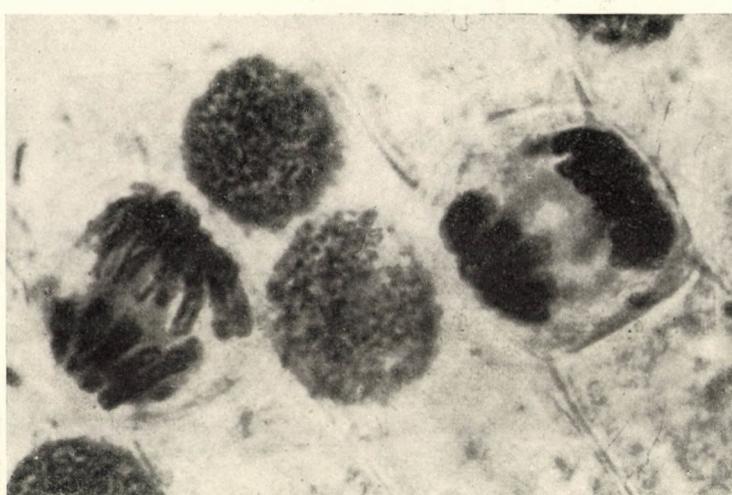


Fig. 5. Erklärung im Text. (Obj.: 4 mm Apo; Ok.: 10 Peripl.)

mit der bei der Bildung der Schliesszellen üblichen Längszellwand (Abb. 5), sondern in einer darauf senkrechten Richtung (Abb. 6). Als Resultat der Teilung sehen wir wieder zwei hintereinander gelagerte Kurzzellen. Es kann jedoch nun beobachtet werden, dass dieselben einen gewissen Unterschied aufweisen. Die apikale Zelle ist ein wenig kleiner und ihr Zellkern färbt sich dunkler (Abb. 7). Die anomale Teilung der Stoma-Mutterzelle muss also als inäqual bezeichnet werden.

Erwähnenswert ist auch der Umstand, dass in den bei der Differenzierung des Protodermas vor sich gehenden Zellteilungen, eine auffallende Periodizität festgestellt werden kann. Im Laufe unserer Untersuchungen konnte sowohl die unter normalen als auch die unter anomalen Umständen vor sich gehende inäquale Teilung fast immer nur an dem vormittags zwischen 10—12 Uhr präparierten bzw. fixierten Versuchsmaterial beobachtet werden. In der äqualen Zellteilung zeigte sich keine derartig auffallende chronologische Regelmässigkeit, nur die Anzahl der feststellbaren Mitosen schwankte bis zu einem gewissen

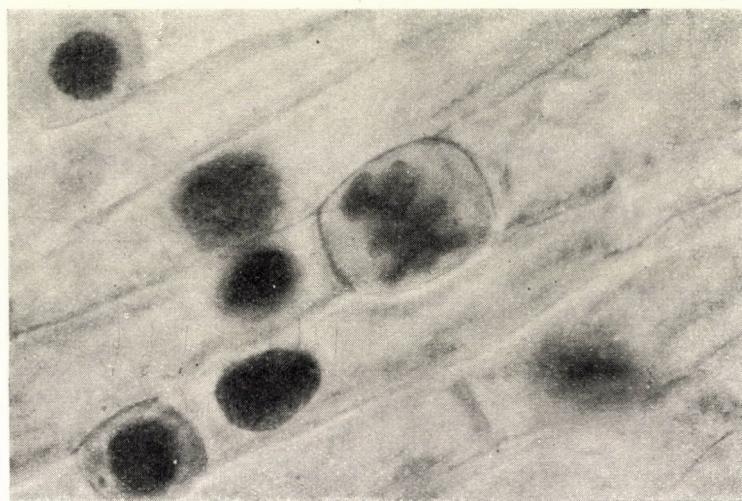


Fig. 6. Erklärung im Text. (Obj.: 8 mm Apo; Ok.: 10 Peripl.)



Fig. 7. Erklärung im Text. (Obj.: 8 mm Apo; Ok.: 10 Peripl.)

Grad. So konnte z. B. die Teilung der Stoma-Mutterzelle in Schliesszellen, in kleinerer-grösserer Anzahl, stets beobachtet werden, die mit Querwand vor sich gehende inäquale Teilung hingegen nur zu dem eben erwähnten Zeitpunkt. Auch diese Beobachtung bestätigt die Feststellung, wonach eine derartige Teilung der Stoma-Mutterzelle inäqualen Charakters ist.

Im Endresultat können wir also feststellen, dass die zweite Kurzzelle jedenfalls durch eine inäquale Teilung entsteht. Es muss aber betont werden, dass

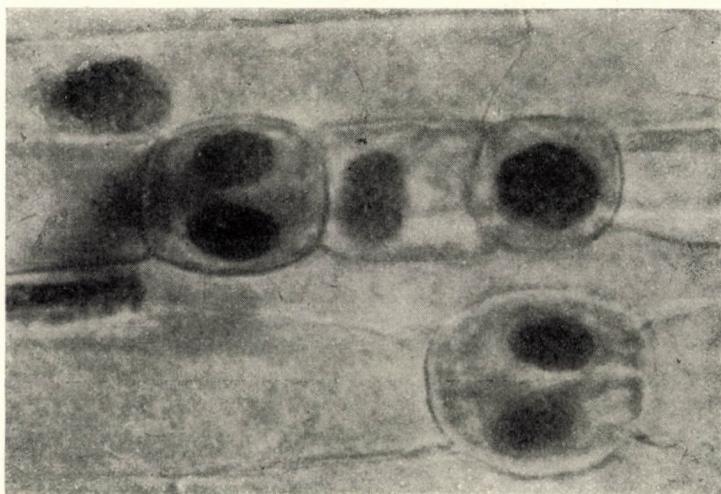


Fig. 8. Erklärung im Text. (Obj.: 8 mm Apo; Ok.: 10 Peripl.)

sich die Zelle in einem Fall als apikale Zelle abschnürt, während sie im anderen Fall als Basalzelle entsteht.

### Diskussion

Aus den Untersuchungen geht also hervor, dass die zweite Kurzzelle auf zweierlei Art entstehen und sich im Laufe der weiteren Entwicklung auf zweierlei Art verhalten kann. Schon die reine Feststellung dieser beiden Umstände war Veranlassung genug, zwischen ihnen einen Zusammenhang zu suchen. Da wir bereits wissen, dass die zweite Kurzzelle als apikale Zelle oder als Basalzelle aus einer inäqualen Teilung entsteht, ist die Annahme eines gewissen Zusammenhangs vollauf berechtigt. In dem Differenzierungsabschnitt der Epidermis verfügen nämlich die Zellen über eine auffallende Polarität, die bei einer im Laufe der normalen Entwicklung stattfindenden inäqualen Teilung gewöhnlich darin zum Ausdruck kommt, dass der Spitze zu eine kleinere meristematische Zelle, der Basis zu hingegen eine grössere, sich fernerhin nicht teilende Zelle entsteht.

Mit Recht darf angenommen werden, dass diese Tendenz auch in der mit der anomalen Entwicklung eintretenden inäqualen Teilung zur Geltung kommt. Wenn sich also die zweite Kurzzelle als apikale Zelle abschnürte, so entwickelt sie sich zu einer Stoma-Mutterzelle meristematischen Charakters und in solchen Fällen sind tatsächlich zwei gleichwertige Stoma-Mutterzellen hintereinander gelagert. Wenn jedoch die zweite Kurzzelle aus einer mit Querwand vor sich gehenden Teilung der ursprünglichen Stoma-Mutterzelle entsteht, ist sie zu weiteren Teilungen unfähig und verwandelt sich allmählich in eine Epidermis-Zelle. Dies beweist, dass die Stoma-Mutterzellen über eine, den Protoderma-Zellen ähnliche Polarität verfügen.

Mit Hilfe der oben dargelegten Überlegung können auch kompliziertere Anomalien in der Entwicklung der Epidermis erklärt werden. Abb. 8 zeigt ein Stoma, hinter diesem eine in die Anfangsphase der Ausdehnung tretende Kurzzelle und eine in der Prophase befindliche Stoma-Mutterzelle. Das Zustandekommen dieses Gebildes können wir so erklären, dass sich die Stoma-Mutterzelle zuerst in Querrichtung teilte und eine apikale Stoma-Mutterzelle und eine basale, nicht meristematische Kurzzelle bildete. Zur letzteren gesellte sich eine dritte, kurze Stoma-Mutterzelle, die sich von der ursprünglich normalen Epidermis-Zelle apikal abgeschnürt hatte. Auf diese Weise entstanden, durch inäquale Teilung, hintereinander angeordnet, drei Kurzzellen. In der ersten und dritten Zelle haben wir Stoma-Mutterzellen, in der mittleren hingegen eine basal abgeschnürte Zelle nicht meristematischen Charakters zu sehen. In der gezeigten Abbildung hat sich die erste Stoma-Mutterzelle bereits in zwei Schliesszellen geteilt, die Basalzelle beginnt sich eben zu verlängern, während sich die hintere Stoma-Mutterzelle in der Prophase der Teilung befindet.

Auf Grund der vorangehenden Überlegungen ist anzunehmen, dass mit der Polarität der Stoma-Mutterzelle auch der Umstand im Zusammenhang steht, dass sich die neue Zellwand, bei der Entstehung der Schliesszellen, stets parallel mit der Längsachse des Blattes, also in Übereinstimmung mit der Polaritätsrichtung ausbildet. Infolge der Polarität können nämlich nur auf diese Weise zwei gleichwertige Zellen entstehen. Dies beweist auch der Umstand, dass bei Teilung der Stoma-Mutterzelle mit Querwand — wie wir es in den vorangehenden Untersuchungen sahen — immer zwei, voneinander wesentlich abweichende Zellen entstehen. Natürlich ist das noch keine unmittelbare Erklärung, weder für die Erscheinung, wonach sich bei der Bildung der Schliesszellen die Achse der Kernspindel gesetzmässig wendet, noch für die plasmatischen Faktoren, die die Längsrichtung der neuen Zellwand bestimmen. Aller Wahrscheinlichkeit nach spielt dabei die polare, feinere Struktur des Zytosplasmas eine wichtige Rolle. Soviel kann jedoch bereits festgestellt werden, dass die Teilung der Stoma-Mutterzellen in Schliesszellen gleichzeitig die letzte Teilung der betreffenden Zelle darstellt. Ist die Stoma-Mutterzelle noch zu zwei Teilungen fähig, so ist die erste inäqual und erfolgt stets mit einer Querwand.

## LITERATUR

1. BÜNNING, E. (1951) Über die Differenzierungsvorgänge in der *Cruciferen*-Wurzel. *Planta*, **39**, 126—153.
2. BÜNNING, E. (1952) Weitere Untersuchungen über die Differenzierungsvorgänge in Wurzeln. *Z. Bot.*, **40**, 385—406.
3. BÜNNING, E. (1953) Entwicklungs- und Bewegungsphysiologie der Pflanze. Dritte Auflage. Springer, Berlin.
4. BÜNNING, E., BIEGERT, F. (1953) Die Bildung der Spaltöffnungsinitialen bei *Allium cepa*. *Z. Bot.*, **41**, 17—39.
5. BÜNNING, E., SAGROMSKY, H. (1948) Die Bildung des Spaltöffnungsmusters in der Blattempidermis. *Z. Naturforsch.*, **3b**, 203.
6. KÜSTER, E. (1951) Die Pflanzenzelle. Zweite Auflage. Fischer, Jena.
7. MIEHE, H. (1899) Histologische und experimentelle Untersuchungen über die Anlage der Spaltöffnungen einiger Monokotylen. *Bot. Cbl.*, **78**, 321.
8. MÜHLDORF, A. (1951) Die Zellteilung als Plasmateilung. Springer, Wien.
9. REUTER, L. (1942) Beobachtungen an den Spaltöffnungen von *Polypodium vulgare* in verschiedenen Entwicklungsstadien. *Protoplasma*, **36**, 321-344.
10. SCHRADER, F. (1954) Mitose. Deuticke, Wien.
11. STRASBURGER, E. (1866) Ein Beitrag zur Entwicklungsgeschichte der Spaltöffnungen. *Jahrb. wiss. Bot.*, **5**, 297-342.
12. ZEPF, E. (1952) Über die Differenzierung des Sphagnumblattes. *Z. Bot.*, **40**, 87-118.

НЕКОТОРЫЕ ВОПРОСЫ ОРГАНИЗАЦИИ ЛИСТОВОГО ЭПИДЕРМИСА  
ALLIUM CEPA L.

При организации эпидермиса семядоли и листьев *Allium cepa* L. в дифференцирующемся протодерме часто образуются две (реже три, иногда четыре) короткие клетки, неправильным образом, непосредственно одна за другой, причем они певидимому являются материнскими клетками устьиц. На самом деле, только первая (находящаяся в направлении верхушки) короткая клетка оказывается всегда материнской клеткой устьиц, а вторая, в некоторых случаях, не делится на замыкающие клетки, а развивается в нормальную эпидермальную клетку. Отклонение в поведении второй короткой клетки объясняется условиями ее образования. В одном случае она образуется путем отшнуровывания от протодермальной клетки в виде апикальной клетки, а в другом — образуется в виде базальной клетки при неправильном делении с образованием перегородки из материнской клетки устьиц. Ввиду полярности клеток при нормальном развитии дифференцирующейся протодермы кажется общедействительной закономерностью, что возникающая в процессе не одинакового деления апикальная клетка оказывается меристематической, тогда как базальная клетка, как правило, не способна к делению. Эта закономерность проявляется также и в ходе неправильной дифференциации, и следовательно, короткая клетка, образующаяся согласно первому случаю, будет меристематической материнской клеткой устьиц, а другая клетка, возникающая согласно второму случаю, дифференцируется в виде эпидермальной клетки. Последнее явление доказывает полярность материнской клетки устьиц. С полярностью материнской клетки устьиц связан и тот факт, что при образовании замыкающих клеток веретено поворачивается, и образование клеточной оболочки происходит параллельно продольной оси листьев, в направлении полярности. Вследствие полярности клетки образование двух равноценных клеток возможно исключительно таким способом.

SOME PROBLEMS CONCERNING THE ORGANISATION OF THE LEAF  
EPIDERMIS OF ALLIUM CEPA L.

At the organisation of the epidermis of the epicotyl and of the leaf of *Allium cepa* L. two (more rarely three, occasionally four) short cells develop which appear to be stoma mother cells. Actually it is only the first short cell situated near the tip, which always proves to be a stoma mother cell, the second one, in the majority of cases, does not divide into guard cells, but develops into a normal epidermis cell. The diverging behaviour of the second short cell

may be explained by the conditions of its origin, which is due to an unequal division. In some cases it arises as an apical cell by way of the division of an epidermis cell, in another it comes into being as a basal cell at the division of a stoma mother cell with an anomalous transversal wall. In the normal development of the differentiating protoderm it seems to be a lawlike pattern of general validity that owing to the polarity of cells, the apical cells, which had arisen by means of an unequal division, are meristematic cells, while the basal ones are as a rule unable to divide. This lawlike pattern asserts itself also in the course of an anomalous differentiation, thus the short cell arising according to the first case, becomes a meristematic stoma mother cell, while the one which originated according to the second case, differentiates into an epidermis cell. This latter phenomenon proves the polarity of the stoma mother cell. The polarity of the stoma mother cell may furnish an explanation for the fact that when the normal guard cell arises the nuclear spindle turns aside and the cell wall in formation develops parallel with the longitudinal axis in the direction of polarity. In view of the polarity of the cell, two equivalent cells can arise in this way only.

LORÁND FRIDVALSZKY, Budapest, VIII., Múzeum krt 4/a. Ungarn.

# UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE ATMUNG DER PFLANZEN

## I. ELEKTROMETRISCHES VERFAHREN ZUR KONTINUIERLICHEN MESSUNG DES WÄHREND DER ATMUNG VERBRAUCHTEN SAUERSTOFFS

O. BALÁZS

PFLANZENPHYSIOLOGISCHES INSTITUT DER UNIVERSITÄT FÜR LANDWIRTSCHAFT, GÖDÖLLÖ  
(VORSTAND: V. FRENYÓ)

UND

BIOCHEMISCHE ABTEILUNG DES AGROCHEMISCHEN FORSCHUNGSGESELLSCHAFTS, BUDAPEST  
(VORSTAND: J. DI GLÉRIA)

(Eingegangen am 5. April 1955)

### Zusammenfassung

Zur Messung des vom lebenden Organismus während der Atmung aus dem Gasraum verbrauchten Sauerstoffs sahen wir es für notwendig ein kontinuierliches elektrometrisches Verfahren auszuarbeiten. Dieses Verfahren soll von den Fehlern der manometrischen Methode frei sein und soll praktisch von den Temperatur- und Druckschwankungen des Systems unabhängig arbeiten. Nach dem Vergleich von zwei, auf dem Tödtschen Diffusionsstrom und auf dem Prinzip der Polarographie beruhenden Methoden, wurde ein Verfahren ausgearbeitet, mit dessen Hilfe die Messung des Sauerstoffgehalts im Luftraum auf eine einfache Strommessung zurückgeführt werden kann. Die Intensität des von der Messzelle gelieferten Stroms ändert sich nämlich proportional mit dem Sauerstoffgehalt des Luftraums. Die Empfindlichkeit der ausgearbeiteten Methode beträgt, auf den Sauerstoffgehalt des Gasraums bezogen, im Falle einer einfachen elektrischen Schaltung 0,1%, im Falle einer Kompensationsschaltung 0,05%.

Das Verfahren kann für biologische Messzwecke gut verwendet werden, denn es entspricht den folgenden Bedingungen: 1. Die kontinuelle Bestimmung verursacht keinen wahrnehmbaren Verbrauch an Sauerstoff. 2. Das Verfahren zeigt den absoluten Wert des Sauerstoffgehaltes im gegebenen Gasraum. 3. Die im Gasraum eingetretene Sauerstoffveränderung wird augenblicklich angezeigt. 4. Die Sauerstoffmessung ist praktisch unabhängig vom Gesamtdruck und der Temperatur des Gasraums. 5. Die Bestimmung wird durch keine anderen Gase bzw. Dämpfe gestört. 6. Die Behandlung ist einfach.

Mit Hilfe des Verfahrens konnten wir einen modernen Respirometer konstruieren.

### Einleitung

Die Beobachtung der in den Lebensfunktionen des Organismus eingetretenen Veränderungen, ist *in vivo* am besten mit der quantitativen Messung der Intensität des Gaswechsels bzw. mit der genauen Messung der Veränderungen des Atmungskoeffizienten (des RQ Wertes) möglich. Die Veränderung des Atmungskoeffizienten lässt auf eine Veränderung in dem Ablauf der Enzymvorgänge schliessen. Die Störung im Enzymgleichgewicht oder ein auf andere Weise noch nicht wahrnehmbarer, aber bereits beginnender Zerfall des Organismus, der Beginn der Desintegrationsprozesse, können *in vivo* nur in der Veränderung des Atmungskoeffizienten zum Ausdruck gelangen. Diesbezügliches Versuchsmaterial wird im weiteren veröffentlicht. Deshalb ist es sowohl vom praktischen als auch vom theoretischen Standpunkt überaus wichtig, dass uns

zur kontinuierlichen Messung des Atmungskoeffizienten solche gasanalytische Verfahren zur Verfügung stehen sollen, die eine sowohl in biologischer als auch in analytischer Hinsicht verlässliche Messung des verbrauchten Sauerstoffs bzw. des produzierten Kohlendioxyds ermöglichen. Gleichzeitig muss man auch darauf bedacht sein, dass während der Atmungsmessung — mit Rücksicht auf die oben geschilderten Gesichtspunkte — an dem Versuchsobjekt parallel auch physiologische oder biophysische Experimente durchführbar sein sollen um die dadurch verursachte Veränderung an dem RQ beobachten zu können.

Der zur gleichzeitigen kontinuierlichen Bestimmung der beiden im Gaswechsel teilnehmenden Gase dienende Respirometertypus ist in der Fachliteratur vielfach beschrieben. Darüber eine Übersicht zu geben, ist nicht unsere Aufgabe. Wir beschränken uns darauf, einige Typen zu erwähnen. Die von FERNANDEZ [4], WETZEL [17], BENNET und CLARK [3], WERTHESSEN [18], WOOD, BREWER, MICHELSON und WERKMAN [19], FINK und MÜNDER [5], ULRICH [13], SPERBER [12] und BALÁZS [1] konstruierten Messgeräte dienen alle demselben Zweck. Die Methoden stimmen — von kleineren Unterschieden abgesehen — darin überein, dass man die Luft aus dem Atmungsobjekt enthaltenden Gefäss, mit Hilfe einer kleinen Pumpe, durch ein geschlossenes Röhrensystem im Kreis zirkulieren lässt. Inzwischen wird das Kohlendioxyd in Lauge absorbiert und in dieser mit modernem Verfahren elektrometrisch bestimmt.

Die infolge der Absorbierung des Kohlendioxyds bzw. durch den Sauerstoffverbrauch des Organismus eingetretene Volumen- bzw. Druckabnahme zeigt die Menge des verbrauchten Sauerstoffs an. Dieser wird dann — mit Hilfe einer Manometer-Automatik — aus verschiedenartigen Generatoren, elektrolytisch wieder auf die Anfangskonzentration ergänzt. Die Menge des zurückdosierten Sauerstoffs wird elektrisch (mit Watt- oder Coulomb-Meter) gemessen und so die genaue Menge des vom Organismus verbrauchten Gases erhalten.

Mit diesen Methoden kann der Atmungskoeffizient zwar ununterbrochen gemessen werden, doch eine ausgedehnte Anwendung derselben wird dadurch verhindert, dass die Veränderung im Sauerstoffgehalt des Luftraums manometrisch gemessen wird, wobei alle Fehler der manometrischen Gasanalyse in Erscheinung treten. Unter anderem muss die ganze Messvorrichtung (mit dem atmenden Organismus zusammen) auf derselben, konstanten Temperatur gehalten werden (im allgemeinen in einem Wasserbad). Bei längeren Versuchen wird das Resultat, bei Anwendung von offenen Manometern, auch durch die Schwankungen des äusseren Luftdrucks beeinflusst. Werden die offenen Messgeräte durch ein geschlossenes System ersetzt [18, 19, 2], so sind Behandlung und die Ausmasse der Geräte mit einer gewissen Schwerfälligkeit verbunden. Die manometrische, also zuletzt auf einem Vergleich mit dem äusseren Luftdruck basierende Methode der Sauerstoffbestimmung muss durch ein Verfahren ersetzt werden, das den absoluten Wert des Sauerstoffgehaltes im Gasraum kontinuierlich, von jeder äusseren Einwirkung unabhängig vermitteln kann.

Eine von den früheren abweichende Lösung stellt der Noyonsche »Diapherometer« [11] dar. Dieser führt die im Sauerstoff- bzw. im Kohlendioxydgehalt des Gasraums eintretenden Veränderungen auf die Messung der Wärmeleitfähigkeit der beiden Gase zurück, ein Verfahren, das im allgemeinen auch bei den Rauchgasanalysen angewendet wird. Das mit elektrischer Widerstandsmessung arbeitende Verfahren bewährte sich schon in moderner fabriksmässiger Ausführung hauptsächlich in der medizinischen Praxis. Ein Nachteil des Verfahrens ist, dass zur Bestimmung des Sauerstoffs das Kohlendioxyd vollkommen entfernt werden muss. Ferner ist eine genaue Bestimmung nur durch vergleichende Messung mit einem Gas unveränderter Zusammensetzung und gleicher Strömungsgeschwindigkeit möglich. Gleichfalls störend wirkt der Wasserdampfgehalt des Gasraums. Unseres Wissens nach ist von allen gegenwärtig verwendeten Respiratoren dieser der modernste.

Ausser den bereits angeführten Forschern weisen noch KORDESCH und MARKO [7, 8] bei der Besprechung ihres Sauerstoffdepolarisationselementes darauf hin, dass ihr Verfahren auch bei den Atmungsmessungen verwendet werden kann.

Die Lösung des Problems ist hauptsächlich deshalb schwierig, weil selbst die moderne, mit elektrometrischen Verfahren arbeitende Gasanalyse über keine verlässlichen Methoden verfügt, mit deren Hilfe auch die sehr geringen, im Sauerstoffgehalt der Gase eintretenden Veränderungen auf einfache, doch verlässliche Weise und kontinuierlich festgestellt werden könnten [10].

Auf Grund oben angeführten Überlegungen müssen die in der Respirometrie gut verwertbaren Sauerstoffbestimmungs-Verfahren den folgenden Bedingungen entsprechen :

1. Die kontinuierliche Bestimmung darf mit keinem wahrnehmbaren Sauerstoff-Verbrauch verbunden sein.
2. Das Verfahren soll den absoluten Wert des Sauerstoffgehalts im gegebenen Gasraum genau anzeigen und die Messung soll nicht mit Hilfe einer auf einem Vergleich basierenden Methode, also nicht mit einer Differenzmessung erfolgen.
3. Die im Gasraum eintretende Sauerstoff-Veränderung soll augenblicklich feststellbar sein.
4. Die Sauerstoffmessung soll vom Gesamtdruck und Temperatur des Gasraums praktisch unabhängig sein.
5. Die Bestimmung darf durch andere Gase (hauptsächlich Kohlendioxyd und Stickstoff bzw. durch Dämpfe) nicht gestört werden.
6. Die Behandlung soll einfach sein.

Das Hauptziel vorliegender Arbeit ist, zwecks Lösung der mit den bisher beschriebenen Messgeräten nicht messbaren biologischen und biophysischen Fragen, die Ausarbeitung eines neuen gasanalytischen Verfahrens.

### Anordnung der Experimente

Bei der experimentellen Lösung der obigen Probleme gingen wir von folgender Annahme aus :

Im Sinne des HENRY—DALTON Gesetzes ist die Menge der einzelnen Gaskomponenten, die sich in der Volumeinheit einer, mit irgendeiner Gasmischung sich berührenden Flüssigkeit bei konstanter Temperatur im Gleichgewichtzustand lösen, proportionell mit dem Partialdruck bzw. der Konzentration der fraglichen Gaskomponenten. Die Menge des in der Flüssigkeit gelösten Sauerstoffs hängt also letzten Endes vom Sauerstoffgehalt des sich mit ihm berührenden Gasraums ab. Wenn mit der intensiven Vermischung der Gas- und Flüssigkeitsphase das Eintreten des Lösungsgleichgewichtes schnell (augenblicklich) erreicht werden kann, so kann auch die Veränderung im Sauerstoffgehalt des Gasraums verfolgt werden. Voraussetzung dessen ist, dass die Menge des gelösten Sauerstoffs mit einer solchen Methode gemessen werden kann, die zur kontinuierlichen Messung der augenblicklichen Gleichgewichtslage fähig ist und durch die Anwesenheit der übrigen Gaskomponenten nicht gestört wird. Auf Grund dieser Überlegung kann die Messung des Sauerstoffgehalts im Gasraum bzw. der in diesem eingetretenen Veränderung auf die Messung der in der Flüssigkeit gelösten Sauerstoffmenge zurückgeführt werden. Wir hatten die Absicht die Messung der gelösten Sauerstoffmenge mit elektrometrischem Verfahren ununterbrochen durchzuführen.

Im Laufe unserer Versuche standen wir vor der Aufgabe, einerseits die Richtigkeit obiger Annahme zu beweisen, anderseits ein entsprechendes (genaues und einfaches) Verfahren zur kontinuierlichen Messung der gelösten Sauerstoffmengen zu suchen. Unter Berücksichtigung des letzten Gesichtspunktes erprobtet wir zwei elektrometrische Versuchsanordnungen.

1. Die Anordnung des Sauerstoffmessgerätes basiert im wesentlichen auf dem TÖDT-Verfahren [14, 15, 16]. TÖDT nahm auf ähnliche Weise die Bestimmung von wassergelöstem Sauerstoff vor. Nach seiner Feststellung entsteht unter Einwirkung von im Wasser oder in einer wässerigen Elektrolytlösung gelöstem Sauerstoff, bei Anwendung eines entsprechenden Elektrodenpaares, elektrischer Strom. Die Intensität des von dem so entstehenden Galvanelement gelieferten Stroms steht im Verhältnis zur Konzentration des auf die edlere Elektrode gelangenden Sauerstoffs. Der stromproduzierende Prozess vollzieht sich unmittelbar auf der Oberfläche der edleren Elektrode und hängt von der Menge des auf der Elektrode absorbierten Sauerstoffs ab. Die Menge des im Elektrodenprozess verbrauchten Sauerstoffs ist so gering, dass die Messung in der Sauerstoffkonzentration des Luftraums keine wesentliche Veränderung verursachen kann.

Nach den Angaben von TÖDT kann die messbare Stromintensität durch intensives Rühren der Flüssigkeit auf das Mehrfache des in der ruhenden Flüssigkeit gemessenen Wertes gesteigert werden.

Die Messzelle wurde nach den Agaben von TÖDT zusammengestellt. Die prinzipielle Anordnung ist auf Abb. 1 zu sehen. Die »edlere Elektrode« (K) besteht aus glattem Platin, die Vergleichselektrode (A) ist eine mit Diafragma (D) getrennte, in Azetat-Pufferlösung getauchte Bleielektrode. Die Elektrolytlösung wurde mit Hilfe eines Synchronmotors gerührt. Der gewonnene Strom wurde mit einem shuntierbaren Galvanometer (G) von  $10^{-8}$  A Empfindlichkeit gemessen. Eine Empfindlichkeit von  $10^{-6}$  A erwies sich als genügend.

2. Die zweite erprobte Anordnung wurde auf die polarographischen Bestimmung des in der Flüssigkeit gelösten Sauerstoffs basiert.

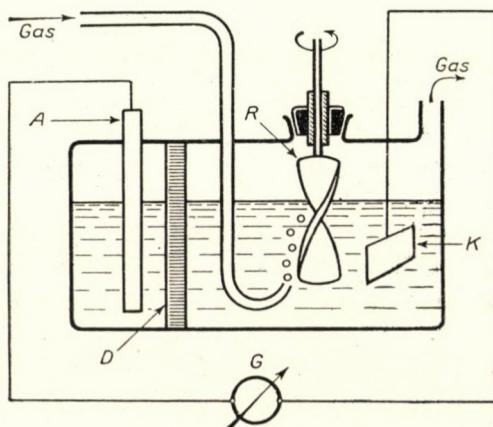


Abb. 1. Prinzipielle Anordnung und Verbindung des Sauerstoff-Messgerätes nach TÖDT. K: Kathode aus Pt; A: Anode aus Pb, D: Tondiaphragma; R: Rührer; G: Galvanometer

Bekanntlich zeigt der in der Elektrolytlösung gelöste Sauerstoff bei den polarographischen Untersuchungen zwei Stufen mit bestimmtem Abscheidungspotential und die bei diesen Potentialen auftretenden Stromintensitäten (die »Höhe der Stufen«) hängen nur von der Sauerstoffkonzentration ab [6]. Dieses Prinzip wollten wir, unserem Ziel entsprechend angeordnet, bei unseren Messungen verwerten.

An Stelle der bei der Polarographie verwendeten Quecksilber-Tropf-Kathode wurde die »Drehelektroden«-Methode von LAITINEN und KOLTHOFF zur Anwendung gebracht [9]. Da im vorliegenden Fall ausschliesslich die Messung der Sauerstoffkonzentration beabsichtigt war, wurde neben der dem Abscheidungspotential des Sauerstoffs entsprechenden konstanten äusseren Spannung nur die Intensitätsveränderung des Stromes gemessen.

Abb. 2 veranschaulicht die prinzipielle Anordnung des Versuches. Da wir in einem geschlossenen System arbeiten wollten, wurde die Dichtung der Achse der Drehkathode mit Hilfe einer Quecksilberdichtung erreicht. Der auf die Achse befestigte Verschlusszylinder aus Stahl (2) ist mit seinem Unterteil in

Quecksilber versenkt, das sich in einer entsprechend ausgebildeten Verschlusskapsel aus Hartgummi (3) befindet. Das Quecksilber (4) erfüllt einerseits die Aufgabe der Flüssigkeitsdichtung, anderseits sichert es auch die Leitung des Kathodenstroms. Sowohl die Sperrkapsel als auch das obere gebogene Ende der Drehachse waren aus isolierendem Material hergestellt. An das untere Ende der Achse ist eine entsprechend ausgebildete Glaskapsel angebracht (5), an deren Ende sich die nadelförmige drehbare Platinkathode (6) befindet. Natürlich ist die Elektrode innerhalb der Glaskapsel mit der Drehachse in metallischer Berührung.

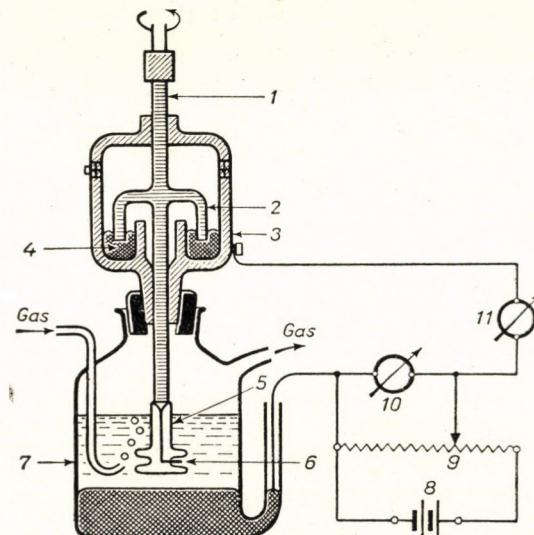


Abb. 2. Die auf polarografischem Prinzip basierende Sauerstoff-Messzelle. 1: Achse der Drehkathode aus Stahl; 2: Verschlusszylinder aus Stahl; 3: Verschlusskapsel aus Hartgummi; 4: Quecksilber-Dichtung; 5: Glaskr. 6: Drehbare Platinkathode; 7: Elektrodengefäß; 8: Stromquelle; 9: Potentiometer; 10: Voltmeter; 11: Galvanometer

rung. Die Elektrode wird durch einen Synchronmotor gedreht. Die Drehkathode mit Quecksilberdichtung ist mit einem Gummistöpsel an das polarographische Elektrodengefäß verbunden (7). Im Stromkreis kann die Spannung des 4 V-Akkumulators (8) mit Hilfe eines Potentiometers (9) am Voltmeter (10) auf einen ablesbaren konstanten Wert, auf das Abscheidungspotential, eingestellt werden. Dann zeigt der Spiegelgalvanometer (11) eine im Verhältnis zum Sauerstoffgehalt stehende Stromstärke die Stufenhöhe.

Die bei den Vorversuchen erzielten Resultate qualitativen Charakters bewiesen, dass zur schnellen Bestimmung des Sauerstoffgehalts der Gase grundsätzlich beide Methoden angewendet werden können. Die zweite, komplizierte und schwierige Anordnung zeigte jedoch unter Einwirkung einer 100%-igen Sauerstoffkonzentrations-Veränderung eine viel geringere Veränderung als die erste, einfachere Anordnung. Ein weiterer Nachteil der Anordnung mit Dreh-

kathode besteht darin, dass im Falle des gleichen Sauerstoffgehalts der Galvanometer verhältnismässig starken Schwankungen unterworfen ist (der Fehler ergibt sich nicht aus dem ungedämpften Zustand des Galvanometers), während bei der zweiten Anordnung diese Erscheinung überhaupt nicht oder nur in sehr geringem Masse zu beobachten war. Infolge der beiden angeführten Gründe beschäftigen wir uns eingehender nur mit der ersten Methode.

Im Laufe der Versuche ergab sich die Notwendigkeit, die Anordnung der von TÖDT beschriebenen stromproduzierenden Zelle in gewisser Hinsicht zu modifizieren. Die Form der stromproduzierenden Zelle und des verwendeten Elektrolyts wurden zweckmässig umgestaltet um auf diese Weise die Messungen auch im Falle sehr kleiner Flüssigkeitsmengen durchführen und gleichzeitig auch das Entstehen der störenden Gasblasen verhindern zu können.

Mit Hilfe dieser Veränderungen wurde die Messvorrichtung wesentlich einfacher und die Anwendung eines Rührmotors erwies sich als überflüssig. Nur darauf muss geachtet werden, dass sich die Geschwindigkeit der Gasströmung im Laufe der Messung nicht verändert. An Stelle der Vergleichskathode aus Blei wurde später eine solche aus Kadmium verwendet. (Die genaue Beschreibung der so veränderten Messapparatur wird an anderer Stelle erfolgen.)

Im Laufe der Messungen wurde das Elektrodengefäß in einem Wasserbad von 20° C mit Höppler-Ultrathermostat temperiert.

Die ersten gasanalytischen Messungen wurden zuerst mit aus Gasflaschen genommenem Sauerstoff und Stickstoff durchgeführt, erst später wurde die Kalibration mit bekannten Mischungen dieser Gase vorgenommen. Die Gasmischungen wurden in einer DEVILLE-Flasche von ungefähr 10 l Rauminhalt mittels einer Gasbürette hergestellt. Aus der DEVILLE-Flasche wurde das Gas mit Hilfe des einströmenden Wassers unter einem (mit empfindlichen Wasser- manometern gemessenen) konstanten Druck und konstanter Geschwindigkeit durch das Elektrodengefäß bzw. durch die Gefäße geleitet. Die Anordnung des Messapparats konnte auch so erfolgen, dass die eingestellte Gasmischung, mit Zwischenschaltung einer Pumpe, in einem geschlossenen Röhrensystem zirkulieren konnte. Auf diese Weise wurde vor allem die »Stabilität« der Messmethode untersucht.

### Messresultate

Zuerst wurde untersucht, auf welche Weise die gemessene Stromintensität von der Strömungsgeschwindigkeit der Gasmischung abhängt, um die optimale Strömungsgeschwindigkeit feststellen zu können. Abb. 3 zeigt die Ergebnisse dieser Messungen. Aus diesen geht hervor, dass die Stromproduktion der Messzelle mit dem Ansteigen der Strömungsgeschwindigkeit anfänglich rasch zunimmt. Später, nach Erreichung eines gewissen Maximums, verflacht sich die Kurve. Auf Grund dieser Kurven führten wir unsere Messungen mit dem gegebenen

Elektrodengefäß, bei einer konstanten Gasströmungsgeschwindigkeit von 8,0 Liter/Stunden, durch.

Unter Anwendung einer Gasmischung mit veränderlichem Stickstoff- und Sauerstoffgehalt, wurde eine Kalibrationskurve aufgenommen. Die von dem

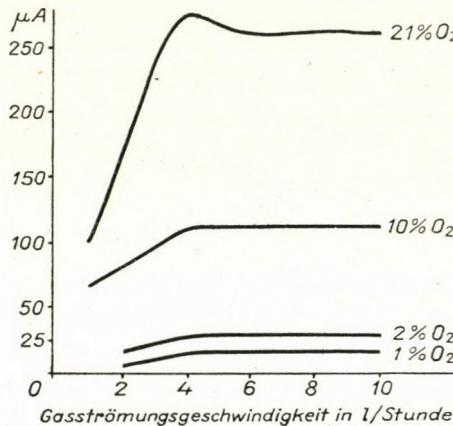


Abb. 3. Die von der Strömungsgeschwindigkeit des Gases abhängige Veränderung in der Stromintensität der Sauerstoff-Messzelle. Der Parameter ist der Sauerstoffgehalt der Gasmischung

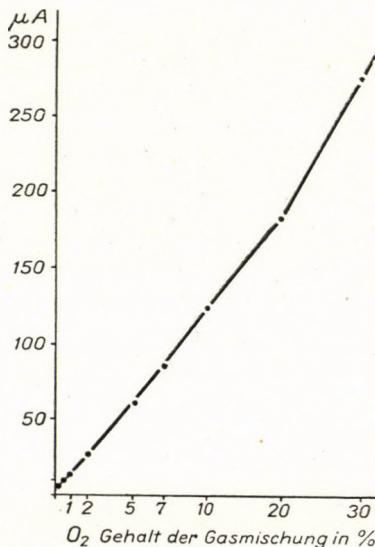


Abb. 4. Der Zusammenhang zwischen dem Sauerstoffgehalt des Gasraums und der Stromintensität der Messzelle (Kalibrationskurve)

Sauerstoffgehalt der durchströmenden Gasmischung abhängende Veränderung in der Stromintensität der Messzelle veranschaulichen die Abb. 4 und die Tabelle 1. Die Feststellung der Kalibrationskurve erfolgte auf die Weise, dass

die Zusammensetzung der mit Hilfe des aus der Gasflasche genommenen Stickstoffs und Sauerstoffs hergestellten Gasmischung — nach der Durchströmung der Messzelle — mit einem ORSAT-Apparat analysiert wurde. Der grösste Fehler der Kalibration bestand darin, dass nicht nur das uns zur Verfügung stehende analytische Verfahren, sondern auch die Kalibrationswerte der zur Herstellung der Gasmischung dienenden Geräte ungenauer waren als die Empfindlichkeit der elektrometrischen Sauerstoffmessung. Die Punkte der Kurve konnten also nur auf statischem Wege bestimmt werden.

Tabelle 1

Die Stromintensität der Sauerstoff-Messzelle in Abhängigkeit vom Sauerstoffgehalt des Gasraums  
(Kalibrationsangaben)

Temperatur 20° C — Gasströmungsgeschwindigkeit 8,0 1/St

Ein- stellung	Der O <sub>2</sub> Gehalt der Gasmischung in % Mit Orsat- Apparatur gemessen M. W.*	Die gemessene Stromintensität im $\mu\text{A}$				Durch- schnittliche Schwankung $\mu\text{A}^{****}$	Anmerkung
		I.**	II.**	III.**	Mittelwert***		
0,0	—	3,7	3,6	3,7	3,7 $\pm$ 0,0	<sup>1</sup> 0,1	<sup>1</sup> N <sub>2</sub> aus Gasflasche mit Pyrogallol gewaschen
0,2	0,2 $\pm$ 0,1	6,0	5,5	6,5	6,3 $\pm$ 0,3	<sup>2</sup> 0,2	<sup>2</sup> N <sub>2</sub> aus Gasflasche
0,5	0,5 $\pm$ 0,1	9,5	8,7	10,0	9,4 $\pm$ 0,4	0,2	
0,8	0,8 $\pm$ 0,1	13,0	11,5	12,5	12,3 $\pm$ 0,4	0,2	
1,0	1,0 $\pm$ 0,1	15,5	16,5	14,5	15,5 $\pm$ 0,6	0,3	
2,0	2,0 $\pm$ 0,1	26,5	27,0	29,0	27,5 $\pm$ 0,8	0,3	
5,0	5,1 $\pm$ 0,1	63,5	59,5	61,5	61,5 $\pm$ 1,2	0,5	
7,0	7,1 $\pm$ 0,2	84,5	89,5	85,0	86,0 $\pm$ 1,6	0,5	
10,0	10,2 $\pm$ 0,3	128,0	125,0	119,5	124,0 $\pm$ 3,0	1,0	shuntiertes Instrument
15,0	14,8 $\pm$ 0,3	178,5	185,0	186,5	183,0 $\pm$ 2,5	1,0	« «
20,0	20,1 $\pm$ 0,4	280,0	268,5	277,5	275,0 $\pm$ 4,0	1,0	« «
Luft	20,8 $\pm$ 0,2	284,5	288,0	282,5	285,0 $\pm$ 1,6	1,0	« «

\*Im Durchschnitt von drei jeweils gesondert hergestellten Gasmischungen. In dem Wert des  $\pm$  Fehlers des Mittelwertes sind die Streuung bei der Herstellung der Gasmischung sowie der methodische Fehler der Bestimmung berücksichtigt.

\*\*Drei parallele Messungen mit jeweils gesondert hergestellten Gasmischungen.

\*\*\*Der  $\pm$  mittlere Fehler des Mittelwertes.

\*\*\*\*Bei Messung von je einer Gasmischung.

Da die Werte der von derselben Gasmischung gelieferten Stromintensität auch nach einer mehrtägigen Messung oder Messpause unverändert blieben, kann die Reproduzierbarkeit der Messung als befriedigend gelten. Dies wird auch durch die Angaben der Tabelle 2 bestätigt.

Tabelle 2

*Schwankung in der Stromintensität im Laufe der Zirkulation von derselben Gasmischung  
(Prüfung der Empfindlichkeit und Stabilität)*

Galvanometer-Empfindlichkeit: 1 Skalenteil =  $2,8 \cdot 10^{-8}$  A. Temperatur: 20° C. Gasströmungsgeschwindigkeit: 8,0 l/St

Der O <sub>2</sub> Gehalt der Gasmischung in % eingestellt	Dauer der Beobachtung Stunden*	Stromintensität $\mu$ A		Die der Schwankung entsprechende O <sub>2</sub> Menge in % a $\omega$	Anmerkung
		Wert	Maximale Schwankung in der gegebenen Zeit**		
1,0	12+12+8	16,32	28	0,023	direkte Messung
2,0	12+ 8	26,68	34	0,028	
4,0	6+12+3	48,24	42	0,035	Kompensations- Messung
10,0	4+ 8+4	122,44	48	0,036	«
20,0	6+12+5	273,2	53	0,033	«
Luft	7+12	284,3	52	0,032	«

\*Mit einer Unterbrechung von durchschnittlich 10—12 Stunden.

\*\*Die sich offensichtlich aus der Schwankung der Strömungsgeschwindigkeit ergebenden Werte wurden nicht berücksichtigt.

Aus der Kalibrationskurve ist zu ersehen, dass bei einem Sauerstoffgehalt von 20% — als obere Konzentrationsgrenze — die Stromintensität der Messzelle in einem nahezu linearen Verhältnis zum Sauerstoffgehalt der Gasmischung steht. Die Kurve steigt nur im Falle eines höheren Sauerstoffgehalts steiler an. Die Intensität des Stromes beträgt — falls wir reines Nitrogen durchströmen lassen — 2—3 Mikroampère, lassen wir jedoch eine N<sub>2</sub>—O<sub>2</sub> Gasmischung mit 20% Sauerstoffgehalt durchströmen, so beträgt die Intensität bei der in den Versuchen verwendeten Messzelle 280  $\mu$ A. Einer 20%-igen Veränderung im Sauerstoffgehalt entspricht also eine 280  $\mu$ A — d.h. im linearen Abschnitt der Kurve entspricht einer 1%-igen Veränderung im Sauerstoffgehalt eine Veränderung von mehr als 12  $\mu$ A der Stromintensität.

Da die Kurve steiler ansteigt, erhöht sich dieser Wert noch im Falle der bei den Atmungsmessungen in erster Reihe in Frage kommenden Gasmischungen (Luft), die einen Sauerstoffgehalt von 20—21% aufweisen. Mit einem entsprechend gewählten, empfindlichen Strommessgerät können diese Werte leicht

bestimmt werden. Die in der ersten Annäherung bereits 0,1% betragende Veränderung im Sauerstoffgehalt kann im Sauerstoffgehalt des Luftraums leicht nachgewiesen werden. Die Empfindlichkeit des Verfahrens kann innerhalb gewisser Grenzen erhöht werden. Diesbezügliche Untersuchungen sind im Gange.

Vom biologischen Standpunkt ist die Feststellung dessen sehr wichtig, wie schnell die in der Gasmischung eintretende Veränderung im Laufe der Messung wahrgenommen werden kann. Nach einer Durchströmung mit reinem Stickstoff lassen wir Luft durch die Messzelle strömen. Das Messgerät reagierte auf diese extrem grosse Veränderung derartig schnell, sozusagen augenblicklich, dass es illusorisch gewesen wäre, die Zeit zu messen, um so mehr, da nicht einmal festgestellt werden kann, wann die durchgeführte Luft den vorangehend im Röhrensystem befindliche Stickstoff verdrängte. Auf Grund ähnlicher wiederholter Beobachtungen kann mit vollem Recht behauptet werden, dass selbst die kleinste im Sauerstoffgehalt der Gasmischung eintretende Veränderung praktisch fast augenblicklich festgestellt werden kann.

Es wurde auch die »störende« Wirkung von einigen uns zur Verfügung stehenden Gasen untersucht. So die Wirkung des bei der Atmungsuntersuchung in erster Reihe in Frage kommenden Kohlendioxyds. Es konnte festgestellt werden, dass der Wert der Stromintensität, gleichgültig, ob die Herstellung der Gasmischung mit Stickstoff oder mit Kohlendioxyd erfolgte, einzig und allein von der Menge des Sauerstoffs abhängt. Bei einer Durchströmung mit reinem Kohlendioxyd wurde derselbe Wert festgestellt, wie im Falle des reinen Stickstoffs. Durch kleine Mengen von Leuchtgas wird die Messung gleichfalls nicht beeinflusst.

Im Laufe unserer Versuche wurde auch gemessen, auf welche Weise die längere Zeit anhaltende Durchströmung der Luft in der Stromlieferung der Messzelle in Erscheinung tritt, wenn in dem Zirkulationsraum kein Sauerstoff verbrauchendes System vorhanden ist (Frage der Stabilität). Wie aus Tabelle 2 hervorgeht, war auch der diesbezügliche Versuch befriedigend. Abgesehen von den Schwankungen, die auf bekannte Fehler, wie z. B. auf die starken Schwankungen in der Zirkulationsgeschwindigkeit zurückgeführt werden können, ist der absolute Wert des so entstehenden Fehlers sehr gering. Im Falle eines niedrigen Sauerstoffgehalts wurden die Messungen unmittelbar, bei einer höheren Sauerstoffkonzentration jedoch — mit einer gewissen Modifizierung der KOHLRAUSCH-Methode — im Kompensationsverfahren, mit einem Galvanometer von  $2,8 \cdot 10^{-7}$  Empfindlichkeit durchgeführt. Die maximale Schwankung beträgt 0,38—0,40  $\mu$ A, was — im Vergleich zum Sauerstoffgehalt der Luft — ungefähr 0,04% entspricht. Auch das ist ein Beweis, dass mit Hilfe dieser Methode eine 0,05%-ige Veränderung des Sauerstoffgehalts der Luft nachgewiesen werden kann. Gleichzeitig beweisen diese Versuche, dass die Bestimmung mit keinem wahrnehmbaren Sauerstoffverbrauch aus dem Luftraum verbunden ist, denn im Verlaufe der mehrstündigen, mit einem verhältnismässig geringen Raumin-

halt vor sich gehenden Versuche hätte dieser Fehler in Erscheinung treten müssen.

Auf Grund der Versuchsergebnisse konnten wir eine kontinuierliche elektrometrische Sauerstoffbestimmung ausarbeiten, die den in der Einleitung dargelegten Bedingungen entspricht und in der Respirometrie verwertet werden kann.

Mit Hilfe des beschriebenen Verfahrens konstruierten wir einen auf elektronischem Wege arbeitenden automatischen Respirometer, der — unter Erhaltung eines konstanten Wertes im Sauerstoffgehalt des Luftraums — den Sauerstoffverbrauch des Organismus misst und zwar bei einem beliebigen, durch den Versuch bedingten, vorher einstellbaren Sauerstoffgehalt des Gasraums.

Schliesslich sei an dieser Stelle dem Leiter des Agrochemischen Instituts, sowie dem verstorbenen Abteilungsleiter L. MÁRKUS, ferner dem Abteilungsleiter V. FERENC unser Dank ausgesprochen. Genannte ermöglichten in selbstloser Unterstützung die Durchführung unserer Versuche.

#### LITERATUR

1. BALÁZS, O. (1951) Újszerű készülék az oxigén és széndioxid egyidejű folyamatos meghatározására légzési folyamatoknál. A novel apparatus for the simultaneous determination of oxygen and carbon dioxide in respiratory processes. *Konzerv-, Hús- és Hűtőipari Kutató Intézet Évkönyve, 1951—1952*, 215—217. (Referat, ungarisch.)
2. BALÁZS, O. (1952) Unveröffentlichte Resultate.
3. BENNET-CLARK, T. A. (1932) A method for automatically recording the oxygen intake of living tissues. *Sci. Proc. Roy. Dubl. Soc.*, **20**, 281—291.
4. FERNANDES, D. S. (1923) Aerobe und anaerobe Atmung bei Keimlingen von *Pisum sativum*. *Rec. trav. bot. néer.*, **20**, 107—138.
5. FINK, H., MÜNDER, H. (1942) Aus einem Referat. *Wschr. Brauerei*, **59**, 119—125.
6. HEYROVSKÝ, J., ZUMAN, P. (1953) Úvod do praktické polarografie. Nakladatelství Československé Věd, Praha.
7. KORDESCH, K., MARKO, A. (1951) Selektive Sauerstoffbestimmung in kleinen Gasmengen (Ein neues, direkt anzeigenches Gerät). *Mikrochem. verein. Mikrochem. Acta*, **36/37**, 420—424.
8. KORDESCH, K., MARKO, A. (1951) Über neuartige Kohle-Sauerstoff-Elektroden. *Österr. Chemiker Ztg.*, 125—131.
9. LAITINEN, H. A., KOLTHOFF, I. M. (1941) Voltametric detns. and amperometric titrations with a rotating microelectrode of Pt wire. *J. Phys. Chem.*, **45**, 1079—1093.
10. LIEBKNECHT, O., TÖDT, F., KAHAN, S. (1953) Sauerstoff. In FRESENIUS, W., JANDER, G. *Handbuch der Analytischen Chemie. III. Quantitative Bestimmungs- und Trennungsmethode*. VI a o. Elemente der sechsten Hauptgruppe. I. 1—100.
11. NOYON, A. K. M. (1935) Aus einem Referat. *Acta breciva Neerl. Physiol. dica*, **5**, 23. (Ausserdem Katalog der Fabrik »Kippdelft-Holland« Instrumentalfabriek : Diaferometre de NOYON pour le Metabolisme Basal.)
12. SPERBER, E. (1945) Studies in the Metabolism of Growing *Torulepsis utilis* under aerobic conditions. *Arkiv Kemi, Mineral., Geologi*, **21A** (3), 1—136.
13. TÖDT, F. (1942) Grundlagen und Anwendung der elektrochemischen Bestimmung des im Wasser gelösten Sauerstoffs. *Gesundheits-Ingenieur*, **65** (9/10), 76—79.
14. TÖDT, F., TESKE, G., WINDISCH, F., HEUMANN, W., GOSLICH, CHR. (1952) Elektrochemische Messung der in Flüssigkeiten gelösten Sauerstoffmengen bei oxy- und anoxybiotischen Stoffwechselprozessen. *Biochem. Z.*, **323**, 192—213.
15. TÖDT, F., TESKE, G., WINDISCH, F., NEUMANN, W., GOSLICH, CHR. (1953) Über die biologische Anwendbarkeit der elektrochemischen  $O_2$ -Messmethode. *Biol. Z.*, **72**, 146—152.
16. ULRICH, A. (1940) Measurement of the respiratory quotient of plant tissues in a constant gaseous environment. *Plant Physiol.*, **15**, 527—536.
17. WETZEL, K. (1927) Zur Physiologie der organischen Säuren in grünen Pflanzen. IV. Zur Entstehung der Oxalsäure. *Planta*, **4**, 476—525.

18. WERTHESSEN, N. T. (1937) An apparatus for the measurement of the metabolic rate of small animals. *J. Biol. Chem.*, **119**, 233—239.

19. WOOD, H. G., BREWER, C. R., MICHELSON, M. N., WERMAN, C. H. (1940) A macro-respirometer for the study of the aerobic metabolism of micro-organisms. *Enzymologia*, **8**, 314—317.

### ИССЛЕДОВАНИЕ ДЫХАНИЯ РАСТЕНИЙ

#### I. Электрометрический способ для непрерывного измерения расхода кислорода, потребляемого во время дыхания

В целях устранения погрешности манометрического способа для измерения расхода кислорода, употребляемого из воздушного пространства при дыхании живых организмов, авторы считали необходимым разработать электрометрическую методику, практически независимую от небольших колебаний температуры и суммарного давления газового пространства. После сравнения двух способов (основанных на диффузионном токе по Тёдту и на принципе полярографии) они разработали метод, с помощью которого концентрация кислорода в воздушном пространстве сводится к простому измерению тока. Интенсивность получаемого от измерительной ячейки тока возрастает параллельно концентрации кислорода в воздушном пространстве. Чувствительность метода при простой электрической схеме равна 0,1% при компенсационной же схеме — 0,05%, применительно к концентрации кислорода в воздушном пространстве.

Данный способ хорошо применим для биологических измерений, так как он удовлетворяет следующим требованиям: 1. Непрерывное определение не требует заметного расхода кислорода. 2. Определяется абсолютная величина концентрации кислорода в воздушном пространстве. 3. Происходящие в воздушном пространстве изменения концентрации кислорода указываются в каждый момент. 4. Измерение расхода кислорода практически не зависит от суммарного давления и температуры воздушного пространства. 5. Определению не мешают посторонние газы, или же пары. 6. Проведение измерения несложно.

Применением указанной методики сконструирован респирометр современного типа.

### STUDIES INTO THE RESPIRATION OF PLANTS

#### I. Electrometric method for the determination of oxygen consumed during respiration

For the measurement of the oxygen consumed by living organisms during respiration, we have developed a continuous electrometric method. This seemed necessary in order to eliminate the errors of the manometric methods, and to be practically independent of the small fluctuations of temperature and pressure of the system.

After evaluating two of the existing methods, namely that of Tödt (based on diffusion current) and the polarographic method, a new procedure has been developed and is described which makes it possible to reduce the determination of the oxygen content of a given air space to the simple measuring of an electric current. It is based on the principle that the intensity of a current supplied by the electric measuring cell grows in proportion with the amount of oxygen contained in the air space. The sensibility of the new method, referred to the total oxygen content of the examined air space, is of the order of 0,1% in the case of simple, and 0,05% in that of compensatory measuring system.

The method is pre-eminently applicable to biological measurements because it satisfies the following requirements: 1. The decrease in the amount of oxygen caused by continuous determination is negligible. 2. Readings give the absolute value of the oxygen content of a given air space. 3. Changes in the amount of oxygen are instantaneously registered. 4. The determination of the amount of oxygen is practically independent of the total pressure and the temperature of the air space examined. 5. The presence of other gases or vapours in the air space is of no consequence for the measurement. 6. Easy manipulation.

The new and up-to-date respirometer, described in the paper, embodies the above principles.

OTTÓ BALÁZS, Budapest, V., Calvin tér 3. Ungarn.



# SOME NOTES ON THE METABOLIC INTERACTIONS BETWEEN HOST AND PARASITE

G. L. FARKAS

INSTITUTE FOR AGRICULTURAL RESEARCH OF THE HUNGARIAN ACADEMY OF SCIENCES, MARTONVÁSÁR  
(DIRECTOR: A. RAJKI)

(Received September 10, 1955)

## Summary

The susceptibility of the host plant is based on an initially „peaceful coexistence” of the two organisms. The coexistence depends upon the harmonic cooperation between the metabolic systems of both components in the host—parasite complex. A special significance should be ascribed to some metabolic processes of the host tissues supplementing the evidently deficient metabolic pattern of the obligate parasites.

A general consequence of infection is a respiratory increase in the tissues of a wide variety of host plants. It may be assumed that the parasitically stimulated respiratory processes of the diseased tissues play a definite role in the host—parasite relations. The available data are in accordance with the view that the host respiration may promote the development of obligate parasites and viruses. By contrast, the parasitically increased respiration should be regarded as a factor of resistance against facultative parasites.

In addition to the role of respiratory processes, the specific nutritional requirements of the pathogens and the metabolite content of the host tissues have been subjected recently to direct investigations. The high degree of specialization among the plant pathogens should be explained by the special metabolite requirements of the different species, races or strains. This fact may be very well demonstrated on the example of the different metabolic requirements of cereal rusts and powdery mildews.

The metabolic aspects of obligate parasitism received considerable attention in the last years. According to the general view prevailing at present the susceptibility of the host plant is based essentially on a harmonic cooperation between the metabolic systems of both components in the host—parasite complex. The development of both partners is undisturbed for a long period in the course of disease development and there are certain indications that in some special cases they may also exert a positive influence on each other [5, 22]. The balance will, however, be sooner or later disturbed and the aggressive factors of the parasite may incite deep and lethal changes in the host's metabolism. In the opposite case the defence reactions of the host tissues are extremely strong and may finally eliminate the penetrating organism.

In spite of the extended work carried out in several laboratories, the elucidation of the factors which decide on the final outcome of the host—parasite coexistence met with great difficulties, especially in the field of obligate parasitism. The present paper will attempt to evaluate some features of the work which has been done in this field, to see in how far an integrated picture can be made from the scattered data and especially to demonstrate the lines on which the research work is already started in our laboratory.

The present results leave little doubt that the metabolic systems of the obligate parasites exhibit significant deficiencies. This follows from the fact that, apart from some scattered cases [9, 21], the most complicated culture media proved unsuited for their cultivation up to the present. The peculiarities of the viruses are very similar in this respect. There is today a general agreement that the viruses lack the enzyme systems necessary for the catalytic processes of life [34]. However, the observations underlying these opinions were made on purified viruses and a similar approach of the problem with obligate parasites is extremely difficult. The pathogen can hardly be isolated from the host tissues. Consequently, the most significant observations were those made on ectoparasites such as the mildews.

Studies on the enzyme systems of germinating spores provided additional data on the metabolic systems of obligate parasites. The enzyme activities of germinating spores can be qualitatively recognized and identified in little drops containing suitable substrates and/or enzyme inhibitors. The results of similar experiments were summarized by KUPREVICH [27] and the evidence is convincing that the enzyme content of obligate parasites is very scanty in comparison with that of the facultative ones.

Some of the outlined problems were attacked in the case of cereal rusts. This circumstance is easily explicable by the fact that the problem of rust resistance is of great interest and practical importance. As a starting point, the experiments of SHU and associates [38] should be remembered. Uredospores of *Puccinia graminis tritici* were germinated in large quantities by the Canadian group and enzyme poisons were used in manometric experiments to obtain some data regarding their metabolic systems. The main conclusion of this paper [38] is so directly applicable to the problem at hand that it is here quoted. „It may be concluded from the results that the glycolytic enzymes seem to be inactive during the germination of the spores. Both succinic dehydrogenase and cytochrome systems possibly are involved in such metabolic processes.”

It is tempting to speculate that in the rust fungus the genetic basis for the synthesis of these enzymes is lacking and therefore the glycolytic systems are operating neither in their initial, nor during their later developmental stages. Really, the development of rust and mildew mycelia in the host depend largely on the carbohydrate reserves and carbohydrate metabolism of the leaves. This is indicated by the following facts :

1. An intensive photosynthetic activity of the host tissues favours the disease development and the outbreak of the pustules [2, 5, 9].
2. As a result of infection, the respiratory rate of the host tissues will be enormously increased. Studies on the respiratory quotient in infected wheat seedlings suggested that the respiratory substrate may be carbohydrate [2, 10].
3. By the use of histochemical tests a significant amount of acid phosphatase has been demonstrated in the mildew hyphae attacking the host cells [4].

As generally recognized, the view has gained ground in the last years that the enzymes localized in the cell membranes (especially those concerned with the phosphorus metabolism) play a definite role in the uptake of various substances. Consequently, the mentioned phosphatases may be active in the transport of sugars and their phosphorylated derivatives into the fungal hyphae.

4. The advent of radioactive isotopes contributed significantly to the clearing of some problems of obligate parasitism. It has been established, for example, that a great amount of different substances accumulate in the infection court [37, 43]. A current of assimilata and other phosphorylated compounds are directed towards the parasite [37].

From the above data it is clear that the carbohydrate reserves of the host deliver nutrilites and energy for the development of the fungus. The evidence is, therefore, convincing that an outstanding role must be attributed to the respiration in the host—parasite interactions. However, as to the nature of this effect, some uncertainty prevails at present. A number of conflicting and contradictory opinions indicate that exaggerated generalizations must be avoided.

Some decisive experiments have already been carried out on facultative parasites which suggest that the chemical inhibition of oxidative enzymes results in converting some resistant plants into susceptible ones. These representative experiments were conducted by FUCHS and KOTTE [11] and by CHRISTIANSEN—WENIGER [7] on the potato-*Phytophthora* and almost simultaneously by WALKER and co-workers [42] on tomato-*Fusarium* host—parasite complexes. All these results are in excellent agreement with the repeated claims of the RUBIN-school [3, 35] about the protective nature of the host respiration in infection processes. The Moscow group carried out a series of important works on the respiratory responses induced by facultative parasites on cabbage, potato and *Citrus* spp., indicating a strong relationship between the high respiratory response and disease resistance. However, the possibility cannot be rejected that the relations are somewhat different in the field of strict (obligate) parasitism (rusts, mildews) and virus infections. One point of interest is in this respect that, as far as we know, the respiration of the plants infected with obligate parasites is always increased [2] and that the same cannot be said of the facultative parasites. A thorough study of the tomato-*Fusarium* complex revealed that the  $O_2$ -uptake of diseased susceptible tissues remains unchanged or declines [16].

The suggestion seems to be very unlikely that the enormously increased respiration of host tissues would be infavourable to the development of the rust fungus, since the parasitically stimulated respiration does not block the outbreak of the disease. On the contrary, respiratory increase and disease development are proceeding parallel, side by side. In the light of what has already been said above, it seems much more likely that the respiration of the host tissues favours the development of the parasite. However, it should be stressed again

that this view has a bearing only on the obligate parasites. As already mentioned, the resistance to *Phytophthora* or *Fusarium* can be broken down in some cases by the application of respiratory inhibitors. There is no doubt that in these complexes the host respiration is an important factor in the resistance to facultative parasites.

GRÜMMER [17] called recently attention to the fact that the „general tendencies” of the protein metabolism in the host tissues have a different effect on obligate and facultative parasites respectively. He pointed out that a predominant protein hydrolysis in the host tissues, i. e. a catabolic, „downward directed” metabolism is correlated with an expressed predisposition of *Papaver somniferum* tissues to infections with *Helminthosporium papaveri* and *Phytophthora infestans*. By contrast, the development of obligate parasites is promoted by a more anabolic type of metabolism.

The study of virus multiplication offers an interesting analogy in this field. It has been demonstrated that the virus increase in the host is highly dependent upon the operation of tricarboxylic acid cycle in the infected tissues. This follows from the fact that stimulation of the cycle by the administration of some of its intermediates promotes the virus increase [33, 36]. The opposite approach of the problem, the application of more or less specific inhibitors, was also successful. The suppression of oxidative processes in the host tissues by malonate strongly interferes with virus multiplication. Since most of the inhibitors exert their effects on the virus multiplication indirectly through the host metabolism (the virus particles lack the enzyme systems) the explanation given by the authors, i. e. that the oxidative processes of the host are necessary for the development of the viruses, is certainly right [1, 36, 40].

The fact that rust infection raises the susceptibility of some plants to virus infections [44] has also bearing on the problem in question. Thus the idea seems to be very tempting that the favourable effect arises as a consequence of the rust stimulated respiration. The problem should be analyzed by the inhibition of the parasitically increased respiration which is sensitive to some metal complexing agents such as  $\text{NaN}_3$  and diethyldithiocarbamate [10, 25].

The host respiration is therefore regarded as a factor influencing favourably the development of obligate parasites and viruses. As to the nature of the processes involved some suggestions can be made on the basis of extended studies carried out on the mechanism of the parasitically increased respiration of wheats infected with rust and mildew. It has been shown that the Krebs cycle has a restricted role in the parasitically stimulated respiration. This is indicated by the fact that the augmented  $\text{O}_2$ -uptake of diseased leaves is markedly resistant to malonate, whereas that of the healthy ones is highly sensitive to this inhibitor [10, 23]. These data are apparently in contradiction to the results achieved on virus diseases whose outbreak is largely dependent upon the intensive operation of the cycle. However, there remains the possibility that even if the way of

energy production differs in tissues infected with obligate parasites or viruses respectively, the two entirely different pathways may lead to products of essentially similar significance to the causative agents.

It may be supposed that high-energy phosphate compounds are involved. The majority of these high-energy bounds being synthesized during the processes of terminal oxidations and not in the course of the glycolytic sequence or during the KREBS cycle, the same amount of energy storing groups may be produced in very different ways.

In connection with this problem a paper by COHEN [8] should be remembered. He has stressed the point that the viruses do not contain nucleotides of the ribose-5-phosphate type (ATP, isoalloxazine nucleotides, DPN, TPN) while these compounds are widely distributed in normal, non parasitic cells. Since the mentioned nucleotides play an outstanding role in the processes of energy transformations, it is not surprising that the energy producing respiratory processes of host tissues and the energy requiring processes of virus multiplication are strongly intercorrelated. As already pointed out, the same situation may occur in the field of obligate parasitism too. The increased respiration of rusted and mildewed leaves exerts no inhibition on the development of these obligate parasites. Further, the investigations carried out recently in our laboratory indicate that only slight respiratory increase develops in infected resistant wheats, although the germ tubes of the fungi penetrate the host tissues and large chlorotic spots develop in a wide variety of host-rust race combinations.

From the findings reported above the picture emerges that an induced respiratory increase in the host tissues may promote the development of some causative agents (obligate parasites, viruses) and the details of the mechanisms concerned may be different. KREBS cycle, linked to cytochrome oxidase operates in the analized cases of virus infections [33, 36], whereas a major fraction of respiration in rusted wheats proceeds through an ascorbic system [25]. However, the role of respiration may be regarded, at least in part, as consisting in the synthesis of some high energy compounds in both cases. The concept that the respiration is a general defence reaction is applicable only to the example of facultative parasitism. Failure to obtain clear-cut results concerning the role of the parasitically increased respiration is certainly due to the fact that no distinction was made between obligate parasites and facultative ones.

A further elucidation of the problem is based on investigations dealing with the mechanism of the respiratory increase in infected plants. The problem of toxin action responsible for the appearance of disease symptoms continues to attract considerable attention. It seems to be indicated that a wide variety of substances incite respiratory increases. The present results point to the possible participation of pantothenate [2] trimethylamin [13] and ipomeamrone [41] in parasitically induced respiratory increases. Nevertheless, the situation is sometimes more complicated. The principle responsible for the

respiratory increase could not be extracted from the rusted leaves [10]. Attempts made in our laboratory to confirm the results of GRETSHUSNIKOV, who claimed to obtain a toxin from rusted leaves, which, infiltrated into healthy tissues, inhibits photosynthesis, ended with negative results. It has also been pointed out that pantothenate, suggested as a compound playing a part in causing the physiological responses in rusted wheats, does not incite the parasitically increased respiration, since pantothenate infiltrated into wheat leaves did not increase the  $O_2$ -uptake of the tissues [24].

The previous discussion centered around the possible role of respiratory processes in the host—parasite interactions. However, we are aware of the fact that this side of the question, although certainly of high importance, is not the only aspect to be considered. When searching for an explanation for the failure of some parasites to develop on certain host species or varieties, it became clear that sometimes fungistatic or even toxic substances may hinder the disease development [26]. This field has been recently reviewed by WALKER [42] and in connection with other problems of parasitism was discussed also by SZENDE [39]. However, the evidences accumulated in favour of the theory of chemical resistance in *sensu stricto*, i. e. that single chemical substances present already in the healthy hosts would be the protective factors against fungus or bacterial diseases (passive resistance) are not very numerous. Fungistatic substances may be produced in the host tissues in response to the presence of a pathogen.

It must be assumed that among the host's metabolites there are also substances that favour the development of the parasite. Thus a particular balance between metabolites and antimetabolites can determine the success or failure of a parasite in its host [31]. A number of investigators studied the possible role of various metabolites of the host tissues upon the development of pathogen [14]. In approaching a chemotherapy by the use of antimetabolites [18, 19] or growth substances [30], it was revealed that the metabolic requirements of parasites are sometimes highly exacting and herefrom a special dependence upon the synthetic functions of the host cells may arise. Investigations into the changes of amino acid content in infected host tissues [12, 28, 29] or the simple comparison of resistant and susceptible host plants concerning their organic acid and sugar content [20] has considerable interest from the same point of view. Special attention should be paid to the changes in nucleic acids and their components [15]. Trypaflavine, known as a dye inhibiting nucleic acid synthesis, infiltrated into wheat leaves greatly inhibited the outbreak and spreading of mildew infection [24]. Unfortunately all these investigations are at an initial stage at present.

Because of the high specificity of obligate parasites for certain hosts it is difficult and perhaps *a priori* impossible to reach general conclusions in this field. It has been observed in our laboratory that the rusts and powdery mildew of wheat reveal quite different nutritional requirements. As demonstrated by HASSEBRAUK [18, 19] the cereal rusts require p-aminobenzoic acid as a growth

factor for their development in their hosts. These results have been confirmed also in our experiments by the use of essentially similar methods (administration of vitamin antagonists). Later the investigations were extended to the mildew of wheat and it became evident that the development of mildew, in strong contrast to that of the rusts, is perfectly insensitive to the antagonists of the vitamin mentioned above. The antimetabolites used (sulphonamides) being low molecular, highly transmissible compounds, the negative results cannot be attributed to permeability barriers and it must be assumed that the metabolite requirements of rusts and mildews are in some respects entirely different.

From this brief survey it is evident that the metabolism of pathogenic fungi and bacteria is highly adapted to the metabolism of their hosts. The mechanism of this „adaptation” may differ from case to case [6]. CUTTER [9] reported on a very remarkable example. He demonstrated that the rust fungus *Gymnosporangium juniperi-virginianae* cultivated on living tissues in vitro cultures may become suddenly saprophytic. The transformation takes place only with a mutational rate [21]. This observation makes highly probable that in the metabolic pattern of the parasite, known ordinarily as an obligate one, only a few systems may be absent. It would be very difficult to assume that in the rust fungus there appears simultaneously the possibility for the catalyzation of several previously absent pathways.

However, it seems logical to assume that sometimes not only single well defined compounds, such as vitamins or growth substances are needed for the development of the parasite, but also whole metabolic chain-reactions are adopted by them (cf. the significance of the host's respiratory processes in the obligate parasitism). These „borrowed” systems may complete the deficient metabolic pattern of the pathogen.

#### REFERENCES

1. ACKERMANN, W. W. (1951) Concerning the relation of the KREBS cycle to virus propagation. *J. Biol. Chem.*, **189**, 421—428.
2. ALLEN, P. J. (1954) Physiological aspects of fungus diseases of plants. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **5**, 225—248.
3. Арутюновская, Е. В. (1946) К физиологии взаимоотношений *Botrytis cinerea* и капусты (*Brassica oleracea*). *Микробиология*, **14**, 47—50.
4. ATKINSON, T. G., SHAW, M. (1955) Occurrence of acid phosphatase in association with the haustoria of powdery mildew on barley. *Nature*, **175**, 993—994.
5. CHESTER, K. S. (1946) The nature and prevention of cereal rusts. *Chronica Botanica*, Waltham.
6. CHRISTENSEN, J. J., DE VAY, J. E. (1955) Adaptation of plant pathogen to host. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **6**, 367—392.
7. CHRISTIANSEN-WENIGER, E. (1955) Versuche zur stoffwechselphysiologische Beeinflussung der Reaktion der Kartoffelknolle auf *Phytophthora infestans* DE BY. *Phytopath. Z.*, **25**, 153—180.
8. COHEN, S. S. (1946) See a discussion in *Heredity and Variation in Microorganisms*. *Cold Spring Harbor Symp.*, **11**, 190—192.
9. CUTTER, V. M. (1951) The isolation of plant rusts upon artificial media and some speculations on the metabolism of obligate plant parasites. *Trans. N. Y. Acad. Sci.*, **14**, 103—108.

10. FARKAS, G. L., KIRÁLY, Z. (1955) Studies on the respiration of wheat infected with stem rust and powdery mildew. *Physiol. Plant.*, **8**, 877—887.
11. FUCHS, W. H., KOTTE, E. (1954) Zur Kenntnis der Resistenz von *Solanum tuberosum* gegen *Phytophthora infestans* DE BY. *Naturwiss.*, **41**, 169.
12. FUCHS, W. H., ROHRINGER, R. (1955) Biochemische Veränderungen im Weizenblatt durch Infektion mit *Puccinia graminis tritici*. *Naturwiss.*, **42**, 20.
13. GARAY, A. ST. (1955) Über die Teilnahme des Trimethylamins in pflanzlichen Infektionsprozessen. *Naturwiss.*, **42**, 393.
14. GARBER, E. D. (1954) The role of nutrition in the host—parasite relationship. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **40**, 1112—1118.
15. GIMESI, N., POZSÁR, B. (1954) Az *Abutilon*-virus hatása a fertőzött sejtek egyes enzymái működésének és ribonucleinsav tartalmának csökkenésére. The effect of *Abutilon* virus on the activities of some enzymes and the decrease of ribonucleic acid content of the attacked cells. *Ann. Biol. Univ. Hung.*, **2**, 90—92. (In Hungarian, with English summary.)
16. GOTHOSKAR, S. S., SCHEFFER, R. P., STAHHMANN, M. H., WALKER, J. C. (1955) Further studies on the nature of *Fusarium* resistance in tomato. *Phytopath.*, **45**, 303—307.
17. GRÜMMER, G. (1955) Die Beziehungen zwischen dem Eiweissstoffwechsel von Kulturpflanzen und ihrer Anfälligkeit gegen parasitische Pilze. *Phytopath. Z.*, **24**, 1—42.
18. HASSEBRAUK, K. (1951) Untersuchungen über die Einwirkung von Sulfonamiden und Sulfonen auf Getreideroste. I. Beeinflussung des Fruktifikationsvermögens. *Phytopath. Z.*, **17**, 384—400.
19. HASSEBRAUK, K. (1952) Untersuchungen über die Einwirkung von Sulfonamiden und Sulfonen auf Getreideroste. II. Weitere Untersuchungen über die rosthemmende Wirkung. *Phytopath. Z.*, **18**, 452—460.
20. HASSEBRAUK, K., KAUL, R. (1956) Vergleichende Untersuchungen über die Säuren und Zucker des Grundstoffwechsels an Weizensorten unterschiedlicher Rostanfälligkeit. *Naturwiss.*, **43**, 40.
21. HOTSON, H. H., CUTTER, V. M. (1951) The isolation and culture of *Gymnosporangium Juniperi-Virginianae* SCHW. upon artificial media. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **37**, 400—403.
22. KIRÁLY, Z., FARKAS, G. L. (1953) Tájékozódó élettani vizsgálatok porúszöggel [*Ustilago nuda* (JENS.) ROSTR.] fertőzött őszí árpák télrekészüléséről. Preliminary studies on the winter hardening of barleys infected with loose smut [*Ustilago nuda* (JENS.) ROSTR.]. *Növénytermelés*, **2**, 130—133. (In Hungarian, with English and German summaries.)
23. KIRÁLY, Z., FARKAS, G. L. (1955) Über die parasitogen induzierte Atmungssteigerung beim Weizen. *Naturwiss.*, **42**, 213—214.
24. KIRÁLY, Z., FARKAS, G. L. (1955) Unpublished results.
25. KIRÁLY, Z., FARKAS, G. L. (1956) On the role of ascorbic oxidase in the parasitically increased respiration of wheat. *Arch. Biochem. Biophys.* (In press.)
26. KOVÁCS, A. (1955) Über die Ursachen der unterschiedlichen Resistenz der Zuckerrübensorten. *Phytopath. Z.*, **24**, 283—298.
27. Купреевич, В. Ф. (1947) Физиология больного растения. Изд. Акад. Наук СССР, Москва.
28. LALORAYA, M. M. (1955) Effect of yellow mosaic virus on the free amino acid and organic acid content of *Phaseolus vulgaris* L. leaves. A chromatographic study. *Naturwiss.*, **42**, 489.
29. LALORAYA, M. M., GOVINDJEE (1955) Effect of „Tobacco leaf-curl” and tobacco mosaic virus on the amino-acid and amide content of *Nicotiana* sp. *Nature*, **175**, 907.
30. LEONEL SERRANO, S. (1955) Posible inducción de resistencia del tomate al *Phytophthora infestans* (MONT.) DE BARY mediante auxonas. *Acta Agronomica (Columbia)*, **5**, 117—134.
31. LEWIS, R. W. (1953) An outline of the balance hypothesis of parasitism. *Amer. Natur.*, **87**, 273—281.
32. MOULDER, J. W. (1954) Biochemical aspects of the growth of feline pneumonitis virus in the chick embryo yolk sac. *Bact. Rev.*, **18**, 170—176.
33. NOUR-ELDIN, F. (1955) The effect of organic acids on the tobacco mosaic virus propagation. *Phytopath.*, **45**, 291.
34. RISCHKOV, V. L., SOUKHOV, K. S. (1938) Virus of tobacco mosaic tested for its power of fermentative activity. *C. R. Acad. Sci. USSR*, **21**, 265—268.
35. Рубин, Б. А., Четверикова, Е. П., Арицховская, Е. В. (1955) Окислительная система и иммунитет растений. *Журн. общ. биол.*, **16**, 106—118.
36. Рыжков, В. Л., Марченко, Н. К. (1954) Влияние некоторых метаболитов на размножение вируса мозаичной болезни табака. *Докл. Акад. Наук СССР*, **98**, 1033—1036.
37. SHAW, M., BROWN, S. A., JONES, D. R. (1954) Uptake of radioactive carbon and phosphorus by parasitized leaves. *Nature*, **173**, 768—769.

38. SHU, P., TANNER, K. G., LEDINGHAM, G. A. (1954) Studies on the respiration of resting and germinating uredospores of wheat stem rust. *Canad. J. Bot.*, **32**, 16—32.
39. SZENDE, K. (1954) A növényi parazitizmus és rezisztencia elméleti kérdései, kemizmusa és anyagcsereellettana. Theoretical problems of plant parasitism and resistance, chemism and physiology of metabolism. *Magyar Tud. Akad. Agrártud. Oszt. Közl.*, **3**, 395—405. (In Hungarian, with English summary.)
40. TAKAHASHI, W. N. (1948) The inhibition of virus increase by malachite green. *Science*, **107**, 226.
41. URITANI, I., AKAZAWA, T., URITANI, M. (1954) Increase of respiratory rate in Sweet-Potato tissue infected with black rot. *Nature*, **174**, 1060.
42. WALKER, J. C., STAHHAMM, M. A. (1955) Chemical nature of disease resistance in plants. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **6**, 351—366.
43. YARWOOD, C. E., JACOBSON, L. (1950) Selective absorption of Sulphur-35 by fungus-infected leaves. *Nature*, **165**, 973.
44. YARWOOD, C. E. (1951) Associations of rust and virus infections. *Science*, **114**, 127—128.

### К ПРОБЛЕМЕ О МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ВЗАИМООТНОШЕНИЯХ МЕЖДУ РАСТЕНИЕМ-ХОЗЯИНОМ И ПАРАЗИТОМ

Восприимчивость растения-хозяина означает согласованность систем обмена веществ комплекса: хозяин-паразит. Особенно большую роль следует приписать имеющим место в тканях растения-хозяина процессам, которые дополняют и возмещают очевидные недостатки, наблюдаемые в процессах обмена веществ obligatных паразитов. В этом отношении решающее значение следует приписать повышенному — как правило — дыханию больного растения, что именно в случае obligatных паразитов представляет собой всеобщее явление. Связь между obligatными паразитами и их растениями-хозяевами в этом отношении можно сравнить со связью между вирусами и их растениями-хозяевами, несмотря на то, что механизм дыхания различен в обоих случаях. Сопоставление полученных до сих пор данных указывает на то, что в противоположность факультативным паразитам, дыхание во многих случаях способствует развитию вирусов и obligatных паразитов.

Кроме дыханию, специальному содержанию метаболитов в растении-хозяине также следует приписать большое значение. Большая специализация возбудителей заболеваний объясняется между прочим также и их большой потребностью в метаболитах. Хорошим примером служит экспериментально доказанная разница в потребности в витаминах ржавчины и мучистой росы.

### EINIGE BEMERKUNGEN ZUM PROBLEM DER STOFFWECHSEL-PHYSIOLOGISCHEN WECHSELWIRKUNGEN ZWISCHEN WIRT UND PARASIT

Die Anfälligkeit der Wirtspflanze beruht auf der Harmonie der Stoffwechselprozesse im Wirt und Parasit. Eine besondere Bedeutung soll in dieser Hinsicht den Stoffwechselprozessen der Wirtsgewebe zugeschrieben werden, welche die offensichtlich lückenhaften Stoffwechsel-systeme der obligaten parasitischen Krankheitserreger ersetzen. Die im allgemeinen erhöhte Atmung der kranken Pflanze, die besonders bei den von obligaten Parasiten hervorgerufenen Krankheiten bemerkenswert ist, übt auf den Krankheitsverlauf oft einen entscheidenden Einfluss. Die Stoffwechselphysiologischen Wechselwirkungen, die sich zwischen den obligaten Parasiten und ihren Wirtspflanzen abspielen, sind in vieler Hinsicht mit den Wechselwirkungen zwischen Viren und Wirtsgeweben zu vergleichen. Die Übersicht der bisherigen Angaben rechtfertigt die Annahme, dass die Entwicklung der obligaten parasitischen Pilze und die der Viren durch die Tätigkeit der Atmungssysteme in den Wirtsgeweben gefördert wird, während bei den fakultativ parasitischen Pilzen die parasitogene Atmungssteigerung oft eine beträchtliche Schutzwirkung entfaltet.

Ausser der Atmung, soll hinsichtlich der Wirt—Parasit-Wechselwirkung dem spezifischen Metabolitgehalt der Wirtsgewebe eine besondere Rolle beigemessen werden. Die außerordentlich grosse Spezialisiertheit der Krankheitserreger kann unter anderem auch durch ihre abweichenden Metabolitbedürfnisse erklärt werden. Ein ausgezeichnetes Beispiel bietet dafür der experimentell nachgewiesene, abweichende Vitaminbedarf von Mehltau- und Rostpilzen.

GÁBOR L. FARKAS, Budapest, II., Herman Ottó út 15. Hungary.



# SUBSTANCES SPÉCIALES JOUANT UN RÔLE DANS L'INFECTION DES PLANTES, PARTICULIÈREMENT EN CE QUI CONCERNE L'ERGOT DU SEIGLE (CLAVICEPS PURPUREA)

A. GARAY

INSTITUT DE RECHERCHES DES PLANTES MÉDICINALES (DIRECTEUR: A. BOROS)

(Reçu le 10. Septembre 1955)

## Résumé

Les sclérotes de l'ergot de seigle contiennent au moins deux matières exerçant une action inhibitive sur la plantule de seigle et sur les racines de blé isolées. Les colonies saprophytes ne contiennent qu'en quantité infime les matières toxiques en question.

Au cours de la pousse des sclérotes les matières toxiques présentes dans l'ergot de seigle passent dans les capitules.

Dans le processus infectieux de l'ergot de seigle la triméthylamine joue le rôle de toxine.

In vitro les conidies du miellat germent mieux que les conidies des saprophytes. Une des raisons consiste en partie en ce que le suc de miellat contient des matières stimulantes.

Seul un mode vie parasitaire permet la formation des matières protectrices de l'ergot de seigle et de celles qui activent la germination ; les matières toxiques se forment dans un milieu saprophytique aussi, mais seulement en quantité infime.

Dans le suc de miellat — suc qui est exempt de conidies — il existe des matières protectrices contre les antimétabolites. Ceci explique en partie pourquoi les conidies du miellat sont plus virulentes que celles qui proviennent de saprophytes.

L'ergothionéine figure aussi parmi les matières protectrices contenues dans le suc de miellat.

## Introduction

Dans leur excellente monographie sur la physiologie du parasitisme, ROUBINE et ARTZIKOVSKAIA [24] écrivent : «Lorsqu'on étudie le parasitisme, il faut diriger ses recherches surtout sur la question des matières qui se forment dans les parasites ; la présence de ces matières détermine la faculté qu'ont les parasites d'exercer une certaine influence sur la plante hôte, de l'attaquer, de pénétrer dans ses tissus, d'intervenir activement dans son métabolisme et de le désorganiser...» «Nous devons attribuer un rôle capital aux toxines sécrétées par les des microorganismes.»

Devançant la pénétration du parasite même, les toxines produisent dans la plante hôte de profonds changements biochimiques même à une certaine distance du point d'infection. Ce changement est multiple. Il est souvent accompagné d'une élévation de température [7], ce qui implique une augmentation de la respiration. Dans le cas de pomme infectée par les champignons, parallèlement à l'élévation de température des tissus voisins du point d'infection, la formation de carbone dioxyde peut devenir presque six fois plus grande [8]. Dans les marrons infectés par *Phytophthora cambivora* les chloroplastes disparaissent même loin du point d'infection [20]. Si nous infectons une feuille de

céleri par *Botrytis cinerea*, la perméabilité de la membrane s'accroît considérablement, même à 10 cm du point d'infection. Ces cellules se déplasmolysent en 3—4 minutes avec du carbamide, tandis que la vitesse de déplasmolyse des cellules saines est de 7 à 8 minutes [27]. Ces effets à distance prouvent que dans le parasitisme végétal l'influence des matières toxiques, que l'on peut supposer très pénétrante, joue un rôle extrêmement important. COUPREVITZ écrit entre autres que d'abord le parasite tue les cellules avec ses toxines, et qu'ensuite il les digère [20].

Le rôle capital joué par les toxines est peut-être encore mieux mis en évidence par les expériences montrant qu'à l'aide d'extraits des agents pathogènes il est possible de faire apparaître les symptômes de la maladie. Les extraits de *Bacterium tumefaciens* produisent un effet tuméfiant [20]. Déjà en 1920 YOUNG et BENNET [20, p. 100] avaient — à partir d'espèces de *Fusarium* — tiré un extrait causant la flétrissure des plantes. De *Gibberella fujikuroi* on peut obtenir un extrait qui augmente la respiration [20, p. 380], empêche la germination des plusieurs graminées [13, p. 577] et stimule l'activité des amylases [13, p. 610]. La stimulation pathogène des enzymes hydrolithiques sert à la nutrition des parasites. A ce point de vue l'expérience de SUCHORUKOV, KLING et OVTCHAROV avec *Phytophthora infestans* est très intéressante. Les extraits de ce champignon stimulent tellement les amylases qu'ils rendent inefficace l'inhibiteur d'amylase se trouvant dans les pommes de terre [20, p. 273].

En ce qui concerne la nature chimique des toxines, nos connaissances sont encore incomplètes. Cependant on peut dire que les combinaisons de compositions les plus différentes peuvent avoir des effets toxiques. De *Taphrina ceramsi* on peut extraire une matière analogue à l'hétéro-auxine [20]. Des amines de structure simple occasionnent la flétrissure [25] ; la toxine provoquant la flétrissure des tomates est de nature polypeptide [13, p. 333]. STEINBERG a étudié le rôle toxique des acides aminés [26]. Selon ses expériences la sensibilité aux acides aminés des plantes de tabac est en corrélation positive avec la résistance à la pourriture des racines. Cette donnée montre aussi que l'on peut établir un rapport entre la résistance et le comportement envers les toxines. Les propriétés de la toxine cristalline tirée de *Trichoderma* rappellent le bios, l'on peut donc supposer que ces toxines troublent le métabolisme des vitamines [29]. Nombreux sont ceux qui croient que parmi les toxines il y a des matières volatiles. Le rôle similaire de l'ammoniac a été étudié par ELDIDINA [24, p. 83]. Lorsqu'il enleva l'ammoniac de la solution de toxines, l'effet toxique se trouva affaibli. Les données de HUNTER et HIXON [16], sur le rôle toxique de l'ammoniac, sont intéressantes. Selon ces deux auteurs on peut constater, en présence de  $\text{NH}_3$ , une phosphorilation anaérobie. A ce propos nous devons souligner que l'effet de l'infection se manifeste souvent par le caractère de la respiration qui devient anaérobie, l'effet PASTEUR se supprime [1, 18]. L'ipomeamaron produit à partir de *Ceratostomella fimbriata* inhibe la phospho-

riation oxydative [30]. Les expériences de YARWOOD [31] confirment aussi la volatilité des toxines. BIRKINSHAW montre le rôle toxique du méthyle-p-metoxybenzoate volatil et d'autres substances produites à partir de *Lentinus lepideus* [24, p. 83].

Enfin en étudiant la chimie des toxines les enzymes cellulase et d'hemicellulase méritent d'être mentionnées. Leur rôle toxique a été montré par GRASSMANN [24, p. 85]. LUTZ [24, p. 85] a découvert des ferments catalysant l'hydrolyse de lignine dans des champignons parasites de certaines espèces d'arbres. Sous le rapport de l'infection il faut aussi tenir compte des pectinases.

Il va de soi qu'il serait trop partial d'attribuer aux toxines un rôle exclusif. La virulence des agents pathogènes est fortement influencée par le milieu : saturation en vapeur d'eau, température etc., et aussi, comme l'écrit BORTELS, [6] même la pression atmosphérique. Il faut cependant remarquer que l'effet exercé par les facteurs extérieurs sur l'infection peut souvent être expliqué sur la base de la toxicologie. Un bel exemple à l'appui est fourni par GÄUMANN [14], il a montré par une expérience qu'une élévation de température augmente tellement l'effet de la licomarasmine qu'il se forme un complexe toxine-Fe dix fois plus efficace.

La virulence dépend aussi de la plante hôte. *Pseudomonas glycineum* s'accroît dans la même mesure pendant 2—3 jours, qu'il s'agisse d'espèces résistantes ou d'espèces susceptibles. Chez les hôtes résistants, ce n'est qu'après ce laps de temps que l'on peut observer une inhibition dans le développement [2]. Mais la virulence dépend aussi de la succion osmotique [23] et du «passé» de l'agent pathogène. On a par exemple réussi à accroître la virulence des espèces de *Phytophthora* au moyen du passage [20]. L'accroissement de la virulence de l'ergot de seigle passé sur graminées des prairies a été décrite par BOROS et GARAY [5].

Nous sommes d'avis qu'un accroissement de virulence de ce genre peut être ramené à des bases toxicologiques. L'on sait que les colonies d'ergot de seigle cultivées dans des conditions saprophytiques et les conidies qui s'y sont formées, sont moins virulentes que les conidies d'origine parasitaire et les ascospores [19]. Nous avons constaté nous même cette différence de virulence et nous voulons passer maintenant à l'examen de cette question, c'est-à-dire essayer de voir si ce phénomène peut être expliqué sur le champ toxicologique, ou, en d'autres termes, si les toxines produites par l'ergot de seigle diffèrent selon qu'il s'agit d'un mode de vie saprophytique ou parasitaire.

#### Action des extraits d'ergot de seigle sur la plante du seigle

Nous avons déjà mentionné plus haut que les toxines des microorganismes exercent souvent une action inhibitive sur la germination des graines de la

plante hôte et sur l'accroissement de la plantule. Ce phénomène peut être constaté dans le cas de l'ergot de seigle aussi.

#### *Matières et méthodes*

Nous avons moulu les sclerotiums d'ergot de seigle et les colonies de saprophytes s'étant développées pendant 3 à 4 semaines sur de l'agar malté. Nous avons fait bouillir cette poudre pendant 5 minutes dans de l'eau distillée en proportion de 4 : 1. Après tamisage nous avons imbibé de cette solution un papier filtre placé dans une boîte de Petri et nous y avons fait germer à 20° C du seigle de Petkus. Quatre jours après, nous avons mesuré le coléoptyle et la longueur des racines de la plantule de seigle. Pour chaque cas nous avons établi quatre expériences parallèles.

Pendant six semaines nous avons réfrigéré à une température variant entre 0 et 3° C les sclérotes de seigle. Après la réfrigération nous les avons fait pousser dans de la mousse. Des capitules et des sclerotiums qui se sont développés en 30—40 jours, nous avons préparé, à la manière décrite plus haut, un extrait sur lequel nous avons aussi fait germer du seigle Petkus. Nous avons aussi effectué la germination sur des extraits de souches-mère qui — d'après les résultats de plusieurs années — s'étaient prouvés de virulence différente. La teneur en alcaloïdes de ces souches a été déterminée par nous selon BÉKÉSY [3]. Finalement nous avons fait germer différentes espèces de seigle sur de l'extrait d'ergot de seigle hongrois souche 12. Nous avons fait pousser la racine isolée du blé dans un milieu nutritif selon GAUTHERET [12]. Dans trois cas nous avons établi 5 expériences parallèles.

#### *Résultats*

Le Tableau 1 montre que l'extrait de sclerotiums entrave fortement la germination du seigle tandis que l'extrait des colonies saprophytiques ne produit

**Tableau 1**  
*Effet de l'extrait d'ergot de seigle sur la germination du seigle*

Extrait	Longeur du coléoptyle en mm	Longeur de la racine en mm
Sclerotium frais .....	12	4
Sclerotium après réfrigération .....	12	3
Sclerotium après pousser ...	16	22
Capitules .....	7	0
Colonies saprophytiques ...	31	24
Témoin .....	42	49

qu'un faible effet inhibiteur. C'est l'extrait préparé à partir des capitules qui exerce la plus forte influence. Donc au cours de la pousser des petites têtes la matière inhibitive disparaît dans les sclerotiums et se ramasse dans les capitules. Il semble que ce fait explique en partie la forte virulence des ascospores. Le tableau met en évidence la valeur moyenne de 50 mesurages. Nous avons aussi constaté que l'extrémité des racines brunit sous l'action de l'extrait de l'ergot de seigle. Sur cette base nous avons examiné l'effet produit par l'extrait d'ergot de seigle

sur les racines de blé isolées. Nous avons constaté que l'extrait des sclerotium stérilisé, d'une concentration de 50 : 1, inhibe complètement le développement des racines de blé isolées, tandis que l'extrait, de même concentration, d'une colonie saprophyte s'est prouvé sans effet. Cette expérience montre en même temps la thermostabilité du principe inhibtif pour la pousse des racines, se trouvant dans l'ergot du seigle.

La question se pose de savoir s'il ne serait pas possible de déterminer la virulence des différentes souches d'ergot de seigle d'après l'influence qu'elles exercent sur la germination. Les expériences engagées dans ce sens ont donné des résultats négatifs. Nous avons examiné de nombreuses souches d'ergot de seigle et nous avons constaté qu'elles ne diffèrent pas sensiblement les unes des autres en ce qui concerne l'effet exercé par leurs extraits sur la germination. Comme c'est démontré par le Fig. 1, la souche albinos, présentant une production de sclerotium relativement basse, entrave davantage la germination du seigle que la souche 12 hongroise dont la production est fort élevée. L'étude approfondie du diagramme amène à une conclusion intéressante. Chez certaines souches, l'influence inhibitive exercée sur le coléoptyle et sur les racines n'est pas parallèle. La souche 12 hongroise et la souche 178 canadienne entravent à peu près autant la pousse du coléoptyle, mais dans une mesure différente celle de la racine. Il est particulièrement curieux que l'extrait de la souche rubesciente influence à peine le développement des racines tandis qu'il entrave considérablement celui des coléoptyles. De ces faits on peut déduire que l'ergot du seigle contient au moins deux principes toxiques : l'un qui entrave la pousse de la racine, l'autre celle du coléoptyle. Nous n'avons pas réussi à établir une connexion entre la virulence, l'effet inhibtif sur le développement, ainsi que la teneur en alcaloïdes.

Après ces constatations, nous nous sommes efforcé de trouver des données sur la nature chimique des matières exerçant une influence sur la germination. L'une de ces substances contenues dans l'ergot de seigle est la triméthylamine.

Nous avons déjà rendu compte du rôle toxique de la triméthylamine [10]. Ici je mentionnerai seulement qu'à côté des nombreuses données de la littérature sur l'effet produit par la triméthylamine sur les ferment hydrolithiques [21, 22, 15, p. 42, 31], et sur la germination des spores [9], nous avons réussi à mettre en évidence trois points importants qui supportent la possibilité de la participation de la triméthylamine dans les processus d'infection :

1. la base libre pénètre vite, tandis que son hydrochloride détruit tellement la membrane de la cellule que les cellules perdent leur pouvoir de plasmolysen. Un phénomène de ce genre sous l'effet d'une infection végétale, est décrit par MEYER [24, p. 85],

2. la base et son hydrochloride entravent également la germination du seigle,

3. infiltrés, ils augmentent la respiration [10].

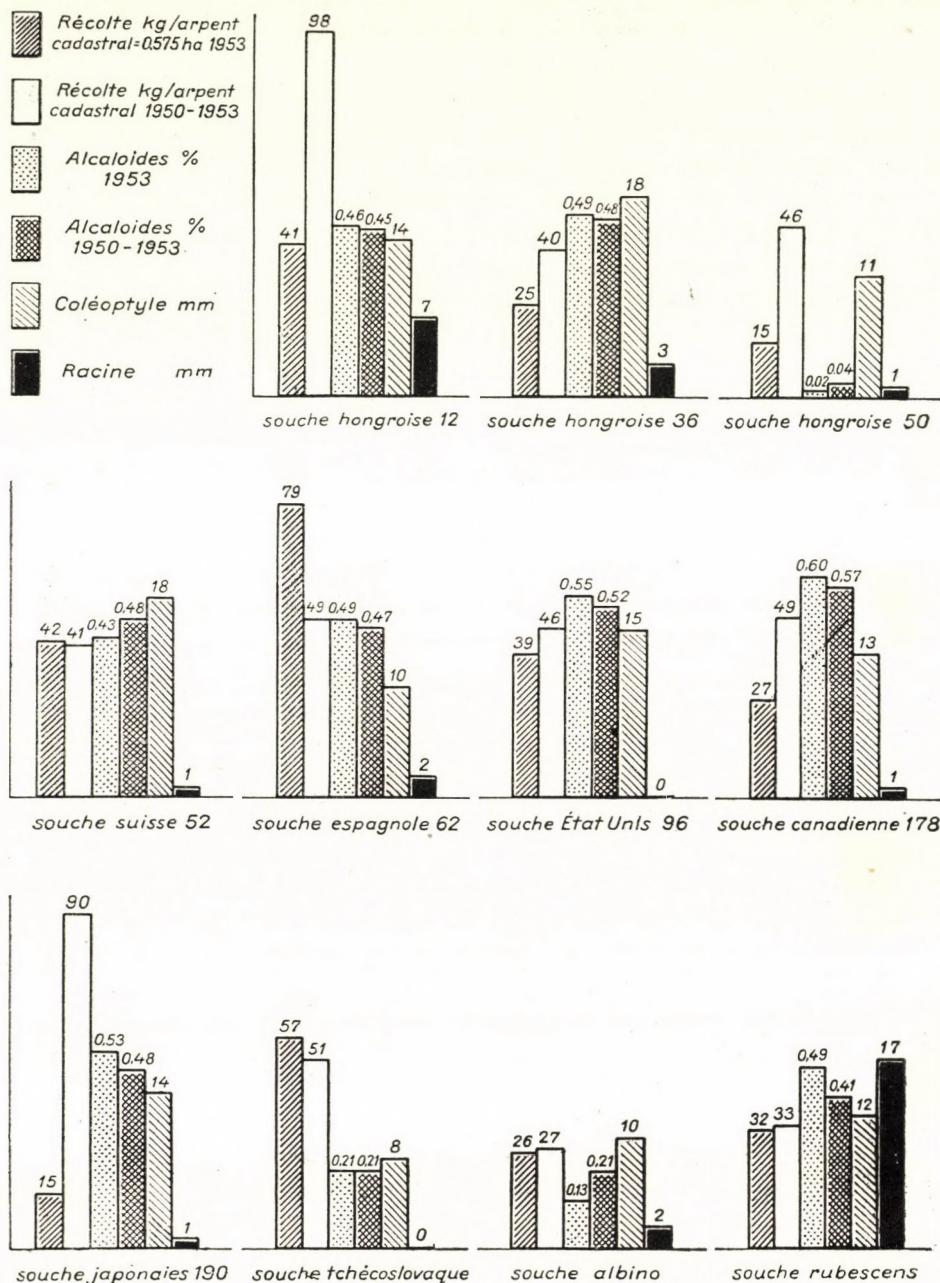


Fig. 1. Récolte de souches d'ergot de seigle d'origine différente et la teneur en alcaloïdes : moyenne de trois ans, et en 1953. Action inhibitive des extraits des souches appropriées sur le développement du coléoptile et de la racine des plantules de seigle

### Le problème de la différence de virulence entre les conidies d'origine saprophytique et celles dont l'origine est parasitaire

Les conclusions de KIRCHHOFF [19] — selon lesquelles l'infection avec du miellat est plus efficace que celle avec des conidies d'origine saprophytique — sont confirmées par nos expériences. Sur cette base nous avons examiné comment germent les deux sortes de conidies dans une goutte pendante.

#### *Matières et méthodes*

Nous avons préparé la goutte pendante de la manière habituelle avec un anneau de verre et nous l'avons maintenu à 20° C. Nous avons mesuré la peroxydase selon BIELOZERSKI et PROSKOURIAKOV [4]. Nous avons déterminé la quantité d'ergothionéine par le procédé de HUNTER [17]. Nous avons recueilli le miellat sur du seigle Petkus infecté par la souche hongroise 12 et les conidies de saprophytes sur des colonies de la même souche s'étant développées 3—5 semaines sur de l'agar malté. Le milieu nutritif employé pour la germination était de la composition suivante :

$\text{KH}_2\text{PO}_4$ .....	1,0 g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ .....	0,6 g
$\text{CaCl}_2$ .....	0,5 g
Asparagine .....	2,0 g
Saccharose .....	30,0 g
Eau dest. .....	1 litre

#### *Résultats*

Les conidies du miellat sont plus petites que les conidies saprophytes dont la forme est d'ailleurs variable. Dans les gouttes pendantes les hyphas embryonnaires des conidies d'origine parasitaire s'accroissent considérablement plus vite (5 expériences parallèles en 3 séries) (Tableau 2).

Tableau 2

*Longueur en microns du hyphe embryonnaire des conidies parasites et saprophytes en présence de divers métabolites, ainsi que l'effet stimulant ou protecteur du suc de miellat*

Solution nutritive + antimétabolite	Longueur en $\mu$ du hyphe des conidies germées en 24 heures			
	Saprophytes		Parasites	
	Solution nutritive	Solution nutritive + suc de miellat	Solution nutritive	Solution nutritive + suc de miellat
$\text{H}_2\text{O}_2 5 \cdot 10^{-3} \text{ M}$ ....	0	325	235	420
Sulfathiazol $2 \cdot 10^{-3} \text{ M}$	28	160	163	225
$\text{HCH} 5 \cdot 10^{-3} \text{ M}$ .....	0	0	105	105
Témoin .....	105	320	240	420

L'auteur a déjà communiqué que sous l'influence de l'infection, l'activité de la peroxydase et de la catalase varie dans l'épi aussi bien que dans la feuille [11]. Il est généralement admis que l'accroissement d'activité des enzymes en question

est un des signes de la réaction de défense de la plante. Sur la base de considérations de principe il semble vraisemblable que le changement constaté dans l'activité des deux enzymes en question signifie qu'il se forme des peroxydes. Il est par conséquence indiqué d'examiner l'hôte la dans, manière dont  $H_2O_2$  agit sur la germination des conidies. Nous avons fait germer les conidies de deux différentes origines dans des gouttes pendantes en présence de superoxyde d'hydrogène et d'autres antimétabolites. Nous avons réussi à établir que les conidies parasites sont bien plus résistantes que les saprophytes tant à  $H_2O_2$ , qu'au sulfatiasol (2-sulphanyl amido-4-methythiasol) et qu'à l'hexachlorcyclohexane (HCH) (Tableau 2). Le miellat contient donc des substances protectrices et stimulantes. La question est maintenant de savoir si ces substances protectrices se trouvent dans la substance, sans cellules, du miellat ou bien dans les conidies. Afin de trouver la réponse à cette question, nous avons dilué du suc de miellat dans la proportion de 1 : 50, centrifugé les conidies puis nous les avons lavés et de nouveau centrifugé. Ensuite nous avons fait germer des conidies saprophytes et parasites dans un milieu nutritif ainsi que dans un milieu nutritif additionné de suc de miellat. Les résultats en sont indiqués au Tableau 2.

L'examen du tableau montre que le suc de miellat exempt de conidies contient les substances protectrices et stimulantes, mais il montre aussi que le plus grand pouvoir de germination et de résistance des conidies parasites ne peut pas être expliqué par la seule action protectrice et stimulante du suc de miellat. Le pourcentage de germination et la vitesse de croissance des conidies parasites lavées sont aussi élevés.

La question suivante consiste à déterminer la nature des principes protecteurs et stimulants mentionnés plus haut. L'on sait depuis longtemps que l'ergot de seigle contient une base spéciale qui est la bétaïne de la thiolhistidine. Cette base a été découverte par TANRET [27] et il lui a donné le nom de ergothionéine. L'on sait aussi que l'effet inhibtif du superoxyde d'hydrogène peut être évité par des compositions contenant le groupe — SH. Il est par conséquent permis de supposer que l'ergothionéine contenant le radical mentionné ci-dessus joue, lors de l'infection de l'ergot de seigle, un rôle protecteur vis-à-vis du superoxyde de l'hydrogène. Les expériences ont prouvé la justesse de cette supposition. L'action inhibitive de  $H_2O_2$  peut être évitée avec  $5 \cdot 10^{-3}$  M d'ergothionéine. L'ergothionéine seule n'active pas la germination.

Ceci fait nous avons examiné la quantité d'ergothionéine contenue dans les conidies saprophytes et dans le miellat. Nous n'avons pu démontrer la présence d'ergothionéine ni dans les conidies lavées de miellat, ni dans les conidies lavées des cultures saprophytiques, tandis que le suc de miellat contient 2—5 mg/ml d'ergothionéine.

Nous avons aussi constaté que l'effet du sulfatiasol pouvait être annulé avec  $10^{-3}$  M d'acides p-aminobenzoïques, par contre nous n'avons pas réussi à éliminer l'action inhibitive de HCH avec l'inositol.

### Discussion

Tout comme ROUBINE [24], nous sommes d'avis que, dans l'étude du parasitisme il faut attribuer un rôle décisif au travail toxicologique. Sur la base de données fournies par d'autres auteurs il nous semble probable que l'on peut interpréter sur le plan toxicologique l'influence du milieu et même quelques cas de résistance. Les résultats des expériences publiés par ces auteurs nous ont conduit à éclairer une question tout à fait spéciale. Nous avons réussi à constater que dans le processus d'infection de l'ergot de seigle l'on trouve des substances qui d'une part sont nuisibles au développement du seigle et d'autre part protègent le parasite contre la réaction défensive du seigle. La formation des deux types de substance dépend du mode de vie de l'ergot de seigle. On a pu constater qu'avec un mode de vie parasitaire il se forme considérablement plus de matières toxiques à l'égard du seigle, tandis qu'en ce qui concerne la formation des matières protectrices nous sommes arrivé à la conclusion que l'ergot de seigle n'en produit pas du tout si la nourriture est saprophytique. L'effet de l'ergothionéine peut sans doute être expliqué par le caractère protecteur connu du groupe sulfhydryle existant dans la molécule. TANRET [27] a montré que dans certaines circonstances 2 molécules d'ergothionéine peuvent s'unir avec la formation d'un groupe S—S.

L'ergot de seigle ne produit pas seulement des substances de caractère agressif et défensif, il produit aussi une substance stimulante pour la germination de ses propres conidies dans un milieu parasitaire.

Qu'il me soit permis de remercier ici Madame PAUL KÖKÉNYESI et les autres collaborateurs qui m'ont aidé dans mon travail.

### BIBLIOGRAPHIE

1. ALLEN, P. J. (1953) Toxins and tissue respiration. *Phytopath.*, **43**, 221—229.
2. ALLINGTON, W. B., CHAMBERLAIN, W. (1949) Trends in the population of pathogenic bacteria within leaf tissues of susceptible and immune plant species. *Phytopath.*, **39**, 656—660.
3. BÉKÉSY, N. (1939) Untersuchungen über den Alkaloidgehalt des Mutterkornes. I. *Bioch. Z.*, **302**, 187—197.
4. Белозерский, А. Н., Прокуряков, Н. И. (1951) Практическое руководство по биохимии растений. Советская наука, Москва.
5. BOROS, Á., GARAY, A. (1955) Anyarozsoltási kísérletek pázsitfűfélékkel. Impfungsversuche mit Mutterkorn auf verschiedenen Gräsern. *Bot. Közl.*, **46**, 83—95. (En hongrois, résumé en allemand.)
6. BORTELS, H. (1949) Über die Abhängigkeit der Virulenz und anderer Eigenschaften pflanzenpathogener Bakterien, sowie des Infektionserfolges vom Wetterverlauf. *Phytopath. Z.*, **15**, 376—393.
7. EGLITS, M. (1933) Der Einfluss der Infektion auf die Temperatur und die Kohlensäureabgabe bei Kartoffeln. *Phytopath. Z.*, **5**, 343—379.
8. FISCHER, H. (1950) Der Einfluss der Infektion auf die Temperatur und die Atmung pflanzlicher Gewebe. *Phytopath. Z.*, **16**, 171—202.
9. FRENYÓ, V. (1950) Néhány alkylamin növényélettani szerepéről. Über die pflanzenphysiologische Rolle einiger Alkylamine. *Ann. Biol. Univ. Budapest*, **1**, 88—94. (En hongrois, résumé en allemand.)
10. GARAY, A. (1955) Über die Teilnahme des Trimethylamins in pflanzlichen Infektionsprozessen. *Naturwiss.*, **42**, 393.
11. GARAY, A. (1955) Untersuchungen über die Beziehungen zwischen Mutterkorn und Roggen. *Naturwiss.*, **42**, 422.

12. GAUTHERET, R. (1935) *Recherches sur la culture des tissus végétaux*. These Univ. Paris.
13. GÄUMANN, E. (1946) *Pflanzliche Infektionslehre*. Birkhäuser, Basel.
14. GÄUMANN, E. (1951) Über den Einfluss der Temperatur auf den Welkeffekt beim toxischen Welken. *Phytopath. Z.*, **17**, 330—333.
15. GUGGENHEIM, M. (1940) *Die biogenen Amine*. Karger, Basel.
16. HUNTER, F. E., HIXON, W. S. (1949) Anaerobic phosphorilation due to the dismutation of  $\alpha$ -ketoglutaric acid in the presence of ammonia. *J. Biol. Chem.*, **181**, 67—71.
17. HUNTER, H. (1949) The determination of ergothionine in simple solution and in blood. *Canad. J. Res.*, **E**, **27**, 230—239.
18. KIRÁLY, Z., FARKAS, G. L. (1955) Über die parasitogen induzierte Atmungssteigerung, bei Weizen. *Naturwiss.*, **42**, 213—214.
19. KIRCHHOFF, H. (1929) Beiträge zur Biologie und Physiologie des Mutterkornpilzes. *Zbl. Bakter.*, **77**, 310—369.
20. Купревич, В. (1947) *Физиология больного растения*. Изд. Акад. Наук СССР, Москва.
21. ORIENT, J. (1922) Die Wirkung der Amine auf die Gärung. I. *Biochem. Z.*, **132**, 352—361.
22. ORIENT, J. (1923) Die Wirkung der Amine auf die Gärung. II. *Biochem. Z.*, **144**, 353—360.
23. POZSÁR, B. (1955) A phloem szénhidrát transzlokációja, különös tekintettel az élősködő növényekre. The translocation of the phloem-carbohydrate with special regard to parasitic plants. *Bot. Közl.*, **46**, 31—37. (En hongrois, résumé en anglais.)
24. Рубин, Б. А., Арциховская, Е. Б. (1948) Биохимическая характеристика устойчивости растений к микроорганизмам. Изд. Акад. Наук СССР, Москва.
25. SCHAFFNIT, E., LÜDTKE, M. (1932) Über die Bildung von Toxinen durch verschiedene Pflanzenparasiten. *Ber. Deutsch. Bot. Ges.*, **50**, 444—463.
26. STEINBERG, R. A. (1951) Amino acid toxicities to tobacco-varieties differing in resistance to root-rot. *Bull. Torrey Bot. Club*, **78**, 227—232.
27. TANRET, C. (1909) Sur une base nouvelle retirée du seigle ergote, l'ergothionine. *C. R. Acad. Sci.*, **149**, 222—224.
28. THATCHER, F. S. (1940) Permeability change as a significant factor in parasitism. *Phytopath.*, **30**, 24.
29. WEINDLING, R., EMERSON, C. H. (1936) The isolation of a toxic substance from the culture filtrate of *Trichoderma*. *Phytopath.*, **26**, 1068—1070.
30. URITANI, I., AKAZAWA, T., URITANI, M. (1954) Increase of respiratory rate in Sweet-Potato tissue infected with black-rot. *Nature*, **174**, 1060.
31. YARWOOD, C. E. (1954) Mechanism of acquired immunity to plant rusts. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **40**, 374—377.

### СПЕЦИАЛЬНЫЕ ВЕЩЕСТВА, ИГРАЮЩИЕ РОЛЬ В ИНФЕКЦИОННЫХ ПРОЦЕССАХ РАСТЕНИЙ, С ОСОБЫМ ВНИМАНИЕМ НА СПОРИНЬЮ (CLAVICEPS PURPUREA)

Склероции спорыни содержат по меньшей мере два вещества, оказывающих тормозящее действие на зародыш ржи и на изолированные корни пшеницы. Сапрофитные грибы же содержат эти ядовитые вещества в весьма незначительном количестве.

В процессе прорастания склероциев ядовитые вещества спорыни перемещаются в плодовые тела. Этим объясняется большая заразительность аскоспор.

В инфекционном процессе спорыни триметиламин играет роль токсина.

Конидии медвяной росы прорастают *in vitro* также лучше чем сапрофитные конидии. Это обуславливается отчасти содержанием ростовых веществ в соке медвяной росы.

Свободный от конидиев сок медвяной росы содержит защитные вещества против антиметаболитов. Этим объясняется отчасти тот факт, что конидии медвяной росы более заразительны чем сапрофитные грибы.

Среди защитных веществ сока медвяной росы наблюдается также эрготионеин.

Защитные и ростовые вещества спорыни образуются исключительно только при паразитирующем образе жизни, в то время как ядовитые вещества образуются также и в сапрофитной среде, однако, только в незначительном количестве.

SPECIAL SUBSTANCES PLAYING A PART IN THE INFECTION PROCESSES,  
OF PLANTS, WITH SPECIAL REGARD TO THE ERGOT  
(CLAVICEPS PURPUREA)

The sclerotia of ergot contain at least two such substances which have an inhibitory effect on the seedling of rye and on the isolated root of wheat. The saprophyte colonies contain the above substances in a very slight quantity only.

The toxic substances of the ergot migrate into the capitula in the course of the sprouting of the sclerotia. This explains the highly aggressive character of ascospores.

Trimethylamine acts as a toxin in the infectious processes of the ergot.

The conidia of honey-dew germinate better *in vitro* than the conidia of saprophytic origin.

The underlying reason for that is partly that the sap of the honey-dew contains stimulating substances.

In the conidium-free sap of the honey-dew there are protective substances against anti-metabolites. This explains partly why the conidia of honey-dew are more virulent than those of saprophytic origin.

Also ergothioneine occurs among the protective substances of the sap of the honey-dew.

The protective substances of honey-dew and those stimulating germination come into being only with a parasitic mode of life. Toxic substances are produced also in a saprophytic condition, even though in a slight amount only.

ANDRÁS GARAY, Budapest, XII., Dániel út 40. Hongrie.



# CHLOROPLAST DENUCLEINATION DUE TO THE EFFECT OF ABUTILON VIRUS

B. I. POZSÁR

EDITORIAL STAFF OF THE HUNGARIAN ENCYKLOPÄDIA

(Received September 10, 1955)

## Summary

Denucleination processes can be followed up histochemically in the chloroplasts of infected cells as well as biochemically in the isolated plastids. Under the effect of abutilon mosaic virus infection the ribonucleic acid (RNA) content of chloroplasts decreases considerably until the symptoms of infection appear. We have subjected the denucleination processes in the chloroplasts — isolated with the method of GRANICK — to biochemical investigation using the method of SCHNEIDER, SCHMIDT and THANNHAUSER. According to our measurements the RNA content of chloroplasts decreases from 5% to 2%, in terms of the organic matter content, while at the same time the amount of desoxyribonucleic acid (DNA) remains unchanged. The denucleination processes of chloroplasts coincide with the disappearance of their natural fluorescence, which latter might be regarded as the symptom of the failure of photochemical activity. The degeneration of chloroplasts manifests itself also in the decline of catalase activity and in the change of the a : b ratio of the chlorophyll. Besides the decrease of volume and the deformation in shape, the lapse of the storing capacity is also concomitant with the progress of the infection of plastids.

## Introduction

According to the data of BAWDEN and PIRIE [2], MARKHAM [16], DORNER and KNIGHT [6] and others, plant viruses contain 5—35% of RNA. On the strength of this consideration, the tobacco mosaic virus, the tobacco necrotic virus, the potato X-virus, the turnip yellow mosaic virus etc. may be considered on the basis of their high RNA content as nucleoproteids.

On the strength of the results of the analysis of human and animal pathogenic viruses, furthermore of phages, they are known always to contain DNA. The data of ADA and PERRY [1] referring to the influenza virus confirm the generally accepted concept that the human pathogenic viruses, excepting the influenza virus, have usually a high nucleic acid content.

The authors agree in general in that the virus infection exercises an influence on the nucleic metabolism of living cells. GIMESI and POZSÁR [8], POZSÁR [18] have proved on vegetal, JOHNSON and ACKERMAN [10] on animal, OZAWA [17] and others on human material the physiological effect of virus metabolism connected with the denucleination of tissues. Since KOZŁOWSKA [13], on the basis of his experimental data, assumes that viruses exercise a physiological effect upon the single constituents of the cell, we have subjected to a close

study the nucleic acid content of the chloroplasts of *Abutilon* leaves in intact tissues and in tissues infected by abutilon mosaic virus.

#### Materials and methods

Histochemical identification of RNA and DNA was made on intact and infected *Abutilon* leaves with the method of FEULGEN, BRACHET, SANDRITTER [19] and DIEFENBACH and SANDRITTER [5]. In order to estimate the quantitative differences we have employed also ribonuclease digestion which has been isolated with the technique of KUNITZ [14].

The denucleination processes of chloroplasts isolated with the method of GRANICK [9] were examined also biochemically with the method of SCHMIDT [20], THANNHAUSER [22] and SCHNEIDER [21]. In the course of our quantitative measurements the RNA and DNA content of chloroplasts, isolated from intact tissues and from tissues which showed the symptoms of infection, were determined simultaneously. Taking into account the relatively high lipid and phospholipid content of chloroplasts, before the determination of nucleic acid we extracted the suspension with a 3 : 1 alcohol-etheric mixture. The mg/g phosphate values obtained, referring to adenine, were also computed into nucleic acid and were expressed in the organic matter per cent. With the help of biochemical data we have calculated the proportion of RNA: DNA in intact and infected chloroplasts.

In addition to the denucleination processes of plastids, we have also studied the natural fluorescence of tissues in various states of infection compared with intact tissues. Examinations concerned with the fluorescence of isolated chloroplasts have also been carried out.

#### Results

It was found by means of histochemical methods that in the infected sites the RNA content of chloroplasts compared with the intact ones considerably decreases, respectively disappears. In the majority of cases ribonucleic digestion did not diminish the RNA content of chloroplasts, from which we have concluded that, due to the effect of the infection, denucleination had been completely accomplished. In the course of our histochemical examinations we have found in some cases a decrease in the dye absorption under the action of ribonuclease. In the course of histochemical quantitative valuations the decrease of RNA taking place under the effect of chloroplast infection was rated 80—100 per cent. In the histochemical differentiating stains we have failed to demonstrate DNA in the chloroplasts of both intact and infected tissues.

The results of our investigations of the fluorescence indicate that the denucleination processes, taking place under the effect of abutilon mosaic virus infection, coincide with the disappearance of the natural fluorescence of plastids.

The RNA content of chloroplasts isolated by the method of GRANICK decreases to half (Table 1).

The divergence of measurements does not exceed  $\pm 6\%$ . The changes ensuing under the effect of infection in the nucleic acid content computed into adenine are presented in Fig. 1.

Under the effect of infection the amount of RNA decreases from 4,8% to 2,1%. The 0,9% value of the DNA content does not vary even under the effect of infection.

Table 1  
*RNA-phosphate and DNA-phosphate content of intact chloroplasts and of such infected with *Abutilon* mosaic virus expressed in mg/g values*

	RNA-PO <sub>4</sub> mg/g	DNA-PO <sub>4</sub> mg/g
Intact . . . . .	13,8	2,6
Infected . . . . .	6,1	2,5

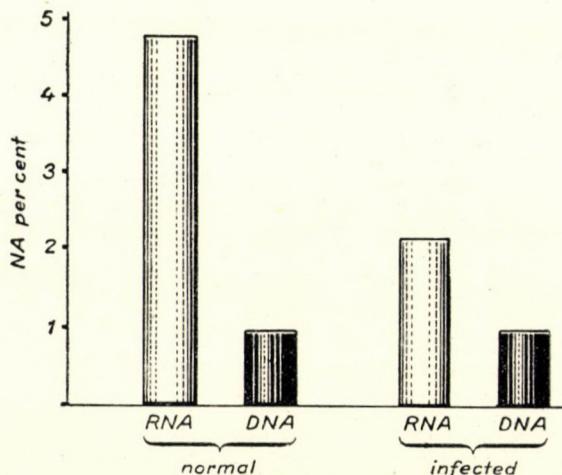


Fig. 1. Nucleic acid content referred to adenine and expressed as percentage of the dry matter of chloroplasts isolated from healthy leaves and from leaves infected with virus

The RNA : DNA ratio of the intact and infected sites of the chloroplasts decreases from 5,3 to 2,3%. The degree of the decrease of the ratio has to be regarded as very uncommon, seeing that a change had been observed in the RNA amount only.

Simultaneously with the denucleination processes the natural fluorescence of isolated chloroplasts also disappears. Very little is yet known about the course of denucleination processes, it must be emphasized, however, that in the tissues showing the macroscopic symptoms of infection the denucleination of chloroplasts may be considered as already completed.

### Discussion

The abutilon mosaic virus propagates primarily in the family of Malvaceae ; also its cytological action is considerable [3]. The biochemically determined, characteristic decrease of the RNA content of chloroplasts, the fading away

of their natural fluorescence, the earlier determined decrease by 50% of catalase activity and by 90% of chlorophyllase activity, moreover the change of the a : b ratio of the chlorophyll, definitively show the degeneration of chloroplasts taking place under the action of the abutilon mosaic virus. According to the data of CSEH [4] the effect of the infection manifests itself first in the decrease of the b- component of the chlorophyll, while the amount of the a- component decreases only in most advanced cases. According to our present-day knowledge photochemical inactivation goes with the fading off of the natural fluorescence of chloroplasts. This is also confirmed by our earlier data concerning the decrease of catalase activity, since it is known from LIEBICH's experimental data [15] that 90 per cent of the iron content of the plasma is contained in the chloroplasts bound almost exclusively to proteins.

In view of the striking increase of the intensity of respiration in the infection processes, we may conclude that biochemical processes and balances have undergone changes [7, 11]. The probability of protein decomposition or of the synthesis of free amino acids into virus protein exists likewise.

A definite relation between the nucleic metabolic processes and the synthesis of viruses is presumable [23]. The biochemical localisation of DNA in the cell structures (mitochondrium, plastid) supports the idea that viruses arise in the cell structures. In accordance with our biochemical determinations the chloroplast of *Abutilon* leaves contains 0,9% of DNA and this amount undergoes no change under the effect of mosaic virus. This fact, in contrast to the decrease of ribonucleic acid allows to draw the conclusion that the role of DNA in the processes of infection is rather insignificant. The RNA content decreases to half in the infected chloroplasts, from which it may be inferred that it became transformed into virus nucleoproteid. On the strength of our examinations it seems likely that virus synthesis may also take place extranuclearly, in connection with cell structures.

In the transformative conversion of cell protein into virus protein an important role may be attributed to DNA, just on the basis of the high interchanging index of phosphates (32 to 35), this being also confirmed by the data of ZECH [23] and KOMETIANI, KOKOTCHASHVILI and DOLIDZE [12]. This assumption may be considered probable, taking into account even the fact that the amount of DNA has not changed under the effect of infection. The physiological role of the metabolism of the RNA content is particularly marked in degenerative processes.

On the basis of our recent knowledge we cannot yet answer the question whether chloroplast degeneration caused by the abutilon mosaic virus is of a reversible or irreversible character, so much, however, is already definitively evident that the storing activity of chloroplasts exposed to infections is inhibited.

## REFERENCES

- ADA, G. L., PERRY, B. T. (1954) The nucleic acid content of influenza virus. *Austral. J. Exper. Biol. Med. Sci.*, **32**, 453—466.
- BAWDEN, F. G., PIRIE, N. W. (1952) Physiology of virus diseases. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **3**, 171—188.
- BIEBL, R. (1950) Zellphysiologische Beobachtungen an panaschierten *Abutilon* Pflanze. *Öster. bot. Zeitschr.*, **47**, 168—179.
- CSEH, E. (1952) A virusfertőzés hatása az *Abutilon* és a *Kitaibelia* lomb leveleinek chlorophyllkomponenseire. Die Wirkung der Virusinfektion auf die Chlorophyllkomponenten der Laubblätter von *Abutilon* und *Kitaibelia*. *Ann. Biol. Univ. Hung.*, **1**, 25—29. (In Hungarian, with German and Russian summary.)
- DIEFENBACH, H., SANDRITTER, W. (1954) Die quantitative Bindung von Galloxyanin-chromalaun an Desoxyribonukleinsäure. *Acta Histochem.*, **1**, 55—59.
- DORNER, R. W., KNIGHT, C. A. (1953) The preparation and properties of some plant virus nucleic acids. *J. Biol. Chem.*, **205**, 959—967.
- FARKAS, G. L., KIRÁLY, Z. (1953) Studies on the respiration of wheat infected with stem rust and powdery mildew. *Physiol. Plant.*, **8**, 877—887.
- GIMESI, N., POZSÁR, B. I. (1954) Az abutilon-virus hatása a fertőzött sejtek egyes enzimai működésének és ribonukleinsav tartalmának csökkenésére. The effect of abutilon virus on the activities of some enzymes and the decrease of ribonucleic acid content of the attacked cells. *Ann. Biol. Univ. Hung.*, **2**, 89—92. (In Hungarian, with English and Russian summary.)
- GRANICKS, S. (1938) Quantitative isolation of chloroplasts from higher plants. *Amer. J. Bot.*, **25**, 558—561.
- JOHNSON, R. B., ACKERMANN, W. W. (1954) Intercellular pattern of nucleic acid in virus infection. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **86**, 316—321.
- KIRÁLY, Z., FARKAS, G. L. (1955) Über Parasitosis induzierte Atmungssteigerung. *Naturwiss.*, **42**, 213.
- Кометиани, П. А., Кокочашвили, В. И., Долидзе, Ш. В. (1955) Изучение обмена фосфорных соединений яичного желтка в процессе развития зародыша методом радиоактивной индикации. *Биохимия*, **20**, 100—105.
- KOZŁOWSKA, A. (1953) Z biologii wirusów roślinnych. *Acta Microbiol. Polon.*, **2**, 319—331.
- KUNITZ, M. (1940) Crystalline ribonuclease. *Jour. Gen. Physiol.*, **24**, 15—32.
- LIEBICH, H. (1941—42) Quantitativ-chemische Untersuchungen über das Eisen in den Chloroplasten und übrigen Zellbestandteilen von *Spinacia oleracea*. *Z. Bot.*, **37**, 129—157.
- MARKHAM, R. (1953) Nucleic acid in virus multiplication. In FILDES, P., HEYNINGEN, W. E. *The nature of virus multiplication*. University Press, Cambridge. 85—98.
- OZAWA, Y. (1953) Pathological researches on *Encephalitis japonica*. VII. Findings of the brain stained with pyronin methyl-green. *Japanese J. Const. Med.*, **18**, 100—103.
- POZSÁR, B. I. (1956) Virusfertőzés és nukleinanyagcsere összefüggései. Relations of virusinfection to nucleic metabolism. *Magyar Tud. Akad. Agrár. Oszt. Közl.* (In Hungarian.) (In the press.)
- SANDRITTER, W. (1952) Eine quantitative färberische, histochemische Bestimmungsmethode der Nukleinsäure in Gewebe. *Z. wiss. Mikrosk.*, **61**, 30—37.
- SCHMIDT, G., CUBILES, R., THANNHAUSER, S. J. (1951) On the nature of the products formed by the action of crystalline ribonuclease (KUNITZ's ribonuclease) on yeast ribonucleic acid. *Jour. J. Cell. Comp. Physiol.*, **38**, 61—70.
- SCHNEIDER, W. C., HOGEBOOM, G. H. (1952) Intracellular distribution of enzymes. *J. Biol. Chem.*, **198**, 155—163.
- THANNHAUSER, S. J., BONCEIDO, N. F., SCHMIDT, G. (1951) Studies of acetal phospholipides of brain. I. Procedure of isolation of crystallised acetal phospholipide from brain. *J. Chem.*, **188**, 417—421.
- ZECH, H. (1954) Morphologische und cytochemische Beobachtungen an tabakmosaikvirusinfizierten Protoplasten von *Nicotiana tabacum*. *Exper. Cell Res.*, **6**, 560—562.

## ДЕНУКЛЕИНАЦИЯ ХЛОРОПЛАСТА ПОД ДЕЙСТВИЕМ ЗАРАЖЕНИЯ ВИРУСОМ АБУТИЛОНА

В хлоропластах зараженных клеток процессы денуклеинации можно проследить гистохимически, а в изолированных пластидах — также и биохимически. Под действием заражения вирусом мозаичной болезни, абутилоном, до появления симптомов зараженности, (мраморированность) содержание RNA в хлоропластах значительно уменьшается. Авторы изучали биохимическим путем и методом *Шнейдера* и *Шмидт-Таннхаузера* процессы денуклеинации на хлоропластах, изолированных методом *Граника*. Согласно полученным результатам содержание RNA в хлоропластах, выраженное в процентах органического вещества, уменьшается от 5% — до 2%, тогда как количество DNA остается неизменным. Процессы денуклеинации хлоропластов совпадают с исчезанием их естественной флуоресценции. Последнее явление можно рассматривать симптомом прекращения фотохимической активности. Дегенерация хлоропластов проявляется также и в уменьшена каталазной активности, и в изменении соотношения a:b хлорофилла. В ходе прогресса зараженности пластидов наблюдается — при уменьшении объема и изменении форм, — также и прекращение способности к накоплению.

### DENUKLEINATION DER CHLOROPLASTEN UNTER EINWIRKUNG VON ABUTILONVIRUS

Die Denukleinationsprozesse können in den Chloroplasten der infizierten Zellen histochimisch und in den isolierten Plastiden auch biochemisch verfolgt werden. Unter Einwirkung der Infektion mit *Abutilon*-Mosaikvirus nimmt der RNS-Gehalt der Chloroplasten bis zum Erscheinen der Infektionssymptome (Marmorierung) in bedeutendem Masse ab.

In den mit der Methode von *GRANICK* isolierten Chloroplasten untersuchten wir die Denukleinationsprozesse mit der Methode von *SCHNEIDER*, *SCHMIDT-THANNHAUSER* auch auf biochemischem Wege. Nach unseren Messungen vermindert sich der RNS-Gehalt der Chloroplasten — in Prozenten des organischen Substanzgehaltes ausgedrückt — von 5% auf 2%, während zur selben Zeit die DNS-Quantität unverändert bleibt. Die Denukleinationsprozesse der Chloroplasten fallen mit dem Verschwinden ihrer natürlichen Fluoreszenz zusammen. Das kann als Zeichen für den Entfall der photochemischen Aktivität gewertet werden. Die Degeneration der Chloroplasten kommt auch in der Verminderung der Katalase-Aktivität und in der Veränderung des Verhältnisses der Chlorophylle a und b zum Ausdruck. Die fortschreitende Infektion der Plastiden ist — neben der Volumenabnahme und Formmissbildung — auch mit dem Entfall der Speicherungsfähigkeit verbunden.

BÉLA POZSÁR, Budapest, V., Szalay u. 10—14., VI/38, Hungary.

The *Acta Biologica* publish papers on biological subjects in English, German, French and Russian.

The *Acta Biologica* appear in parts of varying size, making up one volume.

Manuscripts should be addressed to :

*Acta Biologica, Budapest, IX., Tózoltó utca 58.*

Correspondence with the editors and publishers should be sent to the same addressee, The rate subscription to the *Acta Biologica* is 110 forint a volume. Orders may be placed with "Kultura" Foreign Trade Company for Books and Newspapers (Budapest, VI. Magyar Ifjúság útja 21. Account No. 43-790-057-181) or with representatives abroad.

---

Les *Acta Biologica* paraissent en français, allemand, anglais et russe et publient des travaux du domaine des sciences biologiques.

Les *Acta Biologica* sont publiés sous forme de fascicules qui seront réunis en un volume.

On est prié d'envoyer les manuscrits destinés à la rédaction à l'adresse suivante :

*Acta Biologica, Budapest, IX., Tózoltó utca 58.*

Toute correspondance doit être envoyée à cette même adresse.

Le prix de l'abonnement est de 110. — forint par volume.

On peut s'abonner à l'Entreprise du Commerce Extérieur de Livres et Journaux «Kultura» (Budapest, VI., Magyar Ifjúság útja 21. — Compte-courant No. 43-790-057-181) ou à l'étranger chez tous les représentants ou dépositaires.

---

«*Acta Biologica*» публикует трактаты из области биологии на русском, немецком, английском и французском языках.

«*Acta Biologica*» выходит отдельными выпусками разного объема. Несколько выпусков составляют один том.

Предназначенные для публикации рукописи следует направлять по адресу :

*Acta Biologica, Budapest, IX., Tózoltó utca 58.*

По этому же адресу направлять всякую корреспонденцию для редакции и администрации.

Подписанная цена «*Acta Biologica*» — 110 форинтов за том. Заказы принимает предприятие по внешней торговле книг и газет «Kultura» (Budapest, VI., Magyar Ifjúság útja 21. Текущий счет № 43-790-057-181) или его заграничные представительства и уполномоченные.

## INDEX

- Maucha R. : In memoriam Nándor Gimesi* ..... 129  
*Pozsár, B. I. : The scientific works of Nándor Gimesi* ..... 131  
*Gimesi, N. I.—Pozsár, B. I. : Physiological effect of heat stimulus on the germination of light- and dark-sensitive seeds — Физиологическое действие теплового раздражения на прорастание чувствительных к свету и темноте семян — Biologische Reizwirkung der Wärme auf das Keimen der licht- und dunklempfindlichen Pflanzensamen* ..... 135  
*Gimesi, N. I.—Pozsár, B. I. : The natural vacuolation of chromoplasts — Естественная вакуолизация хромопластов — Natürliche Vakuolisierung der Chromoplasten* ..... 153  
*Frenyó, V. : Die Rolle der Wurzel in den Frühphasen der Entwicklung — Роль корней в ранних фазах развития — The role of the root in the early phases of development* ..... 161  
*Sárkány, S.—Peres, E. : Histogenetical observations in the stem tip of *Papaver somniferum* L. — Гистогенетическое наблюдение на конусе нарастания мака (*Papaver somniferum* L.) — Observations histogénétiques sur l'apex de *Papaver somniferum* L.* ..... 183  
*Szemes, G. : Quantitative Analyse der Benthos-Bacillariophyceen in den Quellengebieten von Tapolcafő — Количествоный анализ диатомового бентоса из источников в Тапольцафё — Quantitative analysis of the benthic Bacillariophycea of source beds in Tapolcafő* ..... 203  
*Hegedüs, A. : Histogenetische Untersuchungen am Sprossvegetationskegel der Weinrebe — Гистогенетическое исследование конуса нарастания стебля винограда — Histogenetical studies on the shoot apices of the vine* ..... 257  
*Maróti, M. : The change in the cell number and in the nucleic acid content of seedlings — Изменение числа клеток и содержания нуклеиновой кислоты в зародышевом растении — Änderungen in der Zellenzahl und in dem Nukleinsäuregehalt der Keimpflanze* ..... 277  
*Fridvalszky, L. : Beiträge zur Frage der Organisierung der Blattepidermis bei *Allium cepa* L. — Некоторые вопросы организации листового эпидермиса *Allium cepa* L. — Some problems concerning the organisation of the leaf epidermis of *Allium cepa* L.* ..... 291  
*Balázs, O. : Untersuchungen über die Atmung der Pflanzen. I. Elektrometrisches Verfahren zur kontinuierlichen Messung des während der Atmung verbrauchten Sauerstoffs — Исследование дыхания растений. I. Электрометрический метод для непрерывного измерения расхода кислорода, потребляемого во время дыхания — Studies into the respiration of plants. I. Electrometric method for the determination of oxygen consumed during respiration* ..... 301  
*Farkas, G. L. : Some notes on the metabolic interactions between host and parasite — К проблеме о метаболических взаимоотношениях между растением-хозяином и паразитом — Einige Bemerkungen zum Problem der stoffwechselphysiologischen Wechselwirkungen zwischen Wirt und Parasit* ..... 315  
*Garay, A. : Matières spéciales jouant un rôle dans les processus d'infection des plantes, particulièrement en ce qui concerne l'ergot du seigle (*Claviceps purpurea*) — Специальные вещества, играющие роль в инфекционных процессах растений, с особым вниманием на споринью (*Claviceps purpurea*) — Special substances playing a part in the vegetal infectious processes, with special regard to the ergot (*Claviceps purpurea*)* ..... 325  
*Pozsár, B. I. : Chloroplast denucleination due to the effect of *abutilon* virus — Денуклеинизация хлоропласта под действием заражения вирусом абутилона — Denukleination der Chloroplasten unter Einwirkung von *Abutilonvirus** ..... 337

# ACTA BIOLOGICA ACADEMIAE SCIENTIARUM HUNGARICAE

ADIUVANTIBUS

A. ÁBRAHÁM, B. FALUDI, B. GYŐRFFY, L. HARANGHY, I. SZÖRÉNYI,  
J. SZENTÁGOTTHAI, I. TÖRÖ

REDIGIT

R. MAUCHA

TOMUS VII

FASCICULUS 4



1957

ACTA BIOL. HUNG.

# ACTA BIOLOGICA

## A MAGYAR TUDOMÁNYOS AKADÉMIA BIOLÓGIAI KÖZLEMÉNYEI

SZERKESZTŐSÉG: BUDAPEST IX., TŰZOLTÓ U. 58. — KIADÓHIVATAL: BUDAPEST V., ALKOTMÁNY U. 21

Az *Acta Biologica* német, angol, francia és orosz nyelven közöl értekezéseket a biológia tárgyköréből.

Az *Acta Biologica* változó terjedelmű füzetekben jelenik meg. Több füzet alkot egy kötetet.

A közlésre szánt kéziratok, géppel írva, a következő címre küldendők:

*Acta Biologica* szerkesztőse: Budapest IX. Tűzoltó u. 58.

Ugyanerre a címre küldendő minden szerkesztői és kiadóhivatali levelezés.

Az *Acta Biologica* előfizetési ára kötetenként belföldre 80, külföldre 110 Ft. Megrendelhető a belföld számára az Akadémiai Kiadó-nál (Budapest, V., Alkotmány utca 21. Bankszámla 05-915-111-44), az Akadémiai Könyvesboltban (Budapest, V., Váci utca 22.), a külföld számára a „Kultúra” Könyv és Hírlap Külkereskedelmi Vállalatnál (Budapest, VI., Népköztársaság útja 21. Bankszámla: 43-790-057-181) vagy külföldi képviseleteinél és bizományosainál.

---

Die *Acta Biologica* veröffentlichen Abhandlungen aus dem Bereich der biologischen Wissenschaft in deutscher, englischer, französischer und russischer Sprache.

Die *Acta Biologica* erscheinen in Heften wechselnden Umfanges. Mehrere Hefte bilden einen Band.

Die zur Veröffentlichung bestimmten Manuskripte sind, mit Maschine geschrieben, an die folgende Adresse zu senden:

*Acta Biologica*, Budapest, IX., Tűzoltó u. 58.

An die gleiche Anschrift ist auch jede Korrespondenz für die Redaktion und den Verlag zu senden.

Abonnementspreis pro Band beträgt 110 Forint. Bestellbar bei dem Buch- und Zeitungs-Aussenhandels-Unternehmen »Kultura« (Budapest, VI., Népköztársaság útja 21. Bankkonto 43-790-057-181) oder bei seinen Auslandsvertretungen und Kommissionären.

# VERÄNDERUNG DER KATALASEAKTIVITÄT IN STREPTOMYCES GRISEUS-KULTUREN

E. KOVÁCS und B. MATKOVICS

BIOCHEMISCHES INSTITUT DER MEDIZINISCHEN UNIVERSITÄT, SZEGED

(VORSTAND: A. KRÁMLI)

(Eingegangen am 30. Januar 1956)

## Zusammenfassung

Es wurden Zusammenhänge zwischen der Entwicklung und der Katalaseaktivität von *Streptomyces griseus*-Kulturen festgestellt. Die Untersuchung der Katalaseaktivität der Kulturen bietet eine Möglichkeit zur zeitlichen Bestimmung ihres Streptomycinproduktionsmaximums.

## Einleitung

Die Redoxkurve, die mit der Zeit eintretenden Veränderungen des Redoxpotentials (RP) in Mikroorganismen-Kulturen darstellt, kann vom Gesichtspunkte der in den Nährboden gelangenden Metabolite in folgende drei Abschnitte gegliedert werden: 1. Wachstums-, 2. Produktions- und 3. Gleichgewichtsphase [4] und liefert somit ein allgemeines Bild über die in der Kultur herrschenden Zustände. Da aber das jeweilige RP die Resultante der zwischen Zellen und Nährboden sich abspielenden biochemischen Vorgänge ist, scheint es angebracht, diese, die Redoxkurve gestaltenden Vorgänge, näher kennen zu lernen.

Das Ziel unserer Untersuchungen war, die RP-Veränderung und Streptomycinproduktion von *Streptomyces griseus*-Kulturen vom Gesichtspunkte der Katalaseaktivität zu verfolgen. Es ist nämlich bekannt, dass die Kulturen aerober Mikroorganismen gewöhnlich eine hohe Katalaseaktivität besitzen [1]. Es war deshalb zu erwarten, dass diese in der Gestaltung der RP-Kurve eine bedeutende Rolle spielt bzw. dass die Verfolgung der Katalaseaktivität eine schärfere Trennung der einzelnen Entwicklungsstadien und eine präzisere biochemische Bewertung der RP-Kurve ermögliche.

Vom Peroxydasespaltungsvermögen wissen wir, dass es an den reduzierten Zustand des als Redoxssystem aufzufassenden Katalase-Oxykatalasesystems gebunden ist [6]. In Gegenwart eines Katalase-Inhibitors wird bei entsprechenden  $p_H$ -Verhältnissen die Fähigkeit des Enzyms, aus Peroxyden aktiven Sauerstoff abzuspalten, weitgehend herabgesetzt, weil schon auf die Wirkung geringer Sauerstoffmengen Oxykatalase entsteht.

Unsere Versuche, die mit einem durch Zerreiben der Zellen mit Quarzsand hergestellten *Streptomyces griseus*-Brei durchgeführt wurden, deuten darauf hin, dass die intrazelluläre hochgradige Katalaseaktivität eine Folge der Verschiebung des Katalase-Oxykatalasesystems zum reduzierten Zustand ist, was darauf schliessen lässt, dass die in der Zelle vor sich gehenden oxydo-reduktiven Veränderungen die Oxydation der Katalase hemmen. In Übereinstimmung hiermit kann festgestellt werden, dass in der Oxydation von Redoxsystemen mit einem niedrigeren Potential als das des Katalase-Oxykatalasesystems auch die Katalase mitbeteiligt sein kann. Nach dem Absterben der Zellen setzt mit der Erhöhung des Sauerstoffgehaltes im Nährboden auch die Oxydation der Katalase ein, welche mit einer erheblichen Verminderung der Katalaseaktivität einhergeht. Die Tatsache, dass die Katalaseaktivität zeitlich mit dem Beginn der Autolyse zusammenfällt, beweist, dass die Katalase infolge ihres hohen Molekulargewichtes durch die Wand der lebenden Zelle nicht in den Nährboden zu diffundieren vermag. Infolgedessen kann Katalase erst nach dem Zugrundegehen der Zellen in den Nährboden gelangen, d. h. ihr Erscheinen im Nährboden bedeutet den Beginn des Zellzerfalls. Die Katalaseaktivität des Nährbodens steigt mit dem Absterben der Zellen solange, als der Nährboden nur wenig gelösten Sauerstoff enthält. In Ermangelung der benötigten Sauerstoffmenge vermag nämlich der hinausdiffundierende Katalase-Inhibitor die Katalase nicht in Oxykatalase umzuwandeln.

In Oberflächenkulturen ist durch die zu Beginn der Entwicklung entstandene Mycelenschicht das Eindringen des Sauerstoffes der Luft in den Nährboden stark behindert, weshalb — nachdem der Sauerstoffvorrat im Nährboden erschöpft ist — die Zellatmung nachlässt; zum totalen Absterben der Zellen kommt es aber nicht, solange der Nährboden noch genügend Nährstoffe enthält. Sind diese völlig verbraucht, so geht die Kultur zugrunde. Die Mycelenschicht wird luftdurchlässig und durch das Entstehen der Oxykatalase kommt es zur rapiden Herabsetzung der Katalaseaktivität.

In Schüttelkulturen ist die Katalaseaktivität eine niedrigere als in Oberflächenkulturen, da hier mehr Sauerstoff zur Verfügung steht und die Wirkung des Katalase-Inhibitors besser zur Geltung kommt.

Es ist ein enger Zusammenhang zwischen Streptomycinproduktion, RP-Veränderung und Katalaseaktivität der Kulturen festzustellen. Gleichzeitig mit der Katalase tritt auch das Streptomycin aus den Zellen heraus, so dass die Kenntnis der Katalaseaktivität wertvolle Aufschlüsse über die Verhältnisse der Streptomycinproduktion gibt.

Um die obigen Ausführungen beweisen zu können, haben wir die Katalaseaktivität von *Streptomyces griseus*-Oberflächenkulturen und ihren Zusammenhang mit der RP-Veränderung, dem Reduktionsvermögen der Kultur (welches hauptsächlich auf ihrem Gehalt an Glukose beruht) und der Streptomycinproduktion untersucht.

### Versuchsmethodik

Zu den Serienversuchen wurden in 100 ccm fassenden Erlenmeyerkolben je 30 ccm Nährboden gegeben und nach dem Verschliessen derselben mit Papierwattestopfen, welche auch die Kalomelbrücke und die Platinelektrode enthielten, 10 Minuten bei 110° C im Autoklav sterilisiert. Die Beimpfung geschah mit auf Schrägagar gezüchteten und mit destilliertem Wasser abgelösten Erouvettenkulturen. Die Züchtung dauerte 19 Tage lang im Thermostat von 26° C. Zu jedem Versuch wurden stets zwei Kolben geöffnet.

Zur Ermittlung des Myceliengewichtes wurde die Mycelienschicht nach zweimaligem Waschen mit Phosphatpuffer (pH 7,0) im Vacuumexsiccator über konzentrierter Schwefelsäure getrocknet.

Die Katalaseaktivität wurde in binnen 5 Minuten gespaltenem  $H_2O_2$  in mg ausgedrückt, demgemäß beruht die Messung auf der jodometrischen Wasserstoffperoxydbestimmung. Gang der Bestimmung: 10 ccm 0,1 Mol  $H_2O_2$ -Lösung werden mit 1 ccm filtriertem Nährboden, der zuvor durch Zentrifugieren geklärt wurde, versetzt und nach Ablauf von 5 Minuten die Katalase mit 5 ccm 2 · n Schwefelsäure inaktiviert. Nun wird Kaliumjodid hinzugefügt, wobei eine dem unersetzt gebliebene Peroxyd äquivalente Menge Jod frei wird, die mit 0,1 · n Natriumthiosulfat titriert wird. Abziehen der nichtzersetzten Peroxydmenge von dem als Kontrolle mittitrierten, gleichgrossen Volumen Peroxyd ergibt den Wert der Katalaseaktivität [7].

Die RP-Messungen erfolgten mit einer in den Nährboden eintauchenden glatten Platin-elektrode [3].

Zur Bestimmung des Reduktionsvermögens des Nährbodenfiltrates unter Benützung von je 1 ccm Nährboden bedienten wir uns des SCHOORLSchen Verfahrens [5], während der Streptomyceingehalt mittels biologischer Wertmessungen ermittelt wurde.

Die Untersuchungen wurden mit dem uns vom Industriellen Arzneimittelforschungsinstitut zu Budapest überlassenen *Streptomyces griseus*-Stamm I. 58 durchgeführt, der in dem in der Literatur [7, 8] angegebenen Oberflächennährboden gezüchtet wurde.

### Versuchsergebnisse

In der ersten Phase der Entwicklung ist keine Katalaseaktivität zu beobachten. Das RP sinkt von den anfangs gemessenen +270 mV binnen 5 Tagen auf —150 mV (Kurve 1). Dies ist — ausser mit den Besonderheiten der lebenden Zelle — mit dem Verbrauche des Sauerstoffbestandes im Nährboden zu erklären. Die intensive Vermehrung der Zellen in dieser Phase lässt eine einheitliche Mycelienschicht entstehen, welche die weitere Sauerstoffversorgung der Zellen stark beeinträchtigt. Aus dem Myceliengewicht ergibt sich, dass mit der Erreichung des niedrigen RP-Niveaus die anfangs intensive Zellvermehrung nachlässt. Mit der Erschöpfung des Sauerstoffvorrates im Nährboden werden die Lebensfunktionen der Zellen herabgesetzt, obwohl der Nährboden noch beträchtliche Mengen Glukose enthält (Kurve 4). Mit dem Absterben der Zellen setzt der Austritt der Stoffwechselprodukte aus dem Zellinnern ein, womit die zweite Phase der Entwicklung, d. h. die Produktionsphase, erreicht ist. Vom 6. Tage an wird durch die austretenden Stoffwechselprodukte sowie durch den Stoffwechsel der lebenden Zellen der infolge des geringen Sauerstoffgehaltes zustandegekommene niedrige RP-Wert nicht beeinflusst. Es bildet sich ein Gleichgewichtszustand heraus, der sieben Tage lang anhält. Zusammen mit den Stoffwechselprodukten gelangt auch die Katalase in den Nährboden, deshalb kann ihr Erscheinen als Beginn der zweiten Phase der Entwicklung betrachtet werden. Während der Produktionsphase wird die noch im Nährboden vorhandene Glukose aufgebraucht

und am 13. Tage ist auch diese Nahrungsquelle erschöpft. Nun setzt die völlige Lyse ein und es kommt zum intensiven Ausströmen der Stoffwechselprodukte. Parallel mit dem Absterben der Zellen steigt auch die Katalaseaktivität, da die aus den zerfallenden Zellen in den sauerstoffarmen Nährboden diffundierende Katalase sich in reduziertem Zustande befindet. Die Katalaseaktivität steigt, solange die Zelle fähig ist, den gelösten Sauerstoff des Nährbodens aufzubrauchen.

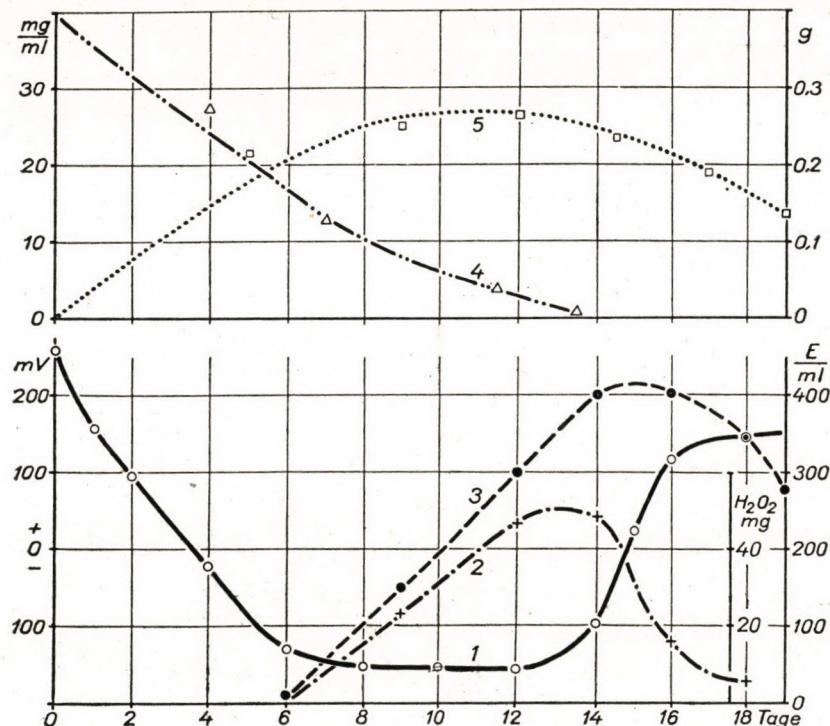


Abb. 1. Zusammenhänge zwischen Redoxpotential (1), Katalaseaktivität (angegeben in zerstetztem  $H_2O_2$ ) (2), Streptomycinproduktion (3), Reduktionsvermögen (4) und Myceliengewicht (5) von *Streptomyces griseus*-Kulturen

Ist dies nicht mehr der Fall, so erreicht der Nährboden durch den Anstieg seines Sauerstoffgehaltes — der auch durch den Anstieg der RP-Kurve angedeutet ist — ein Niveau, bei dem allmählich die Inaktivierung der Katalase einsetzt.

Hat die Katalaseaktivität ihr Minimum erreicht (bei etwa 15 mg  $H_2O_2$ ), so hört auch das Ansteigen des RP auf; dies ist am 16. Tage der Fall. Nach diesen Beobachtungen bestehen zwischen Streptomycinproduktion und Katalaseaktivität innigste Zusammenhänge. Der Produktionsbeginn fällt mit dem Erscheinen der Katalase zusammen und nimmt 6 Tage lang — proportional zu der Katalaseaktivität — zu. Die Streptomycinproduktion hört auch nach der Verminderung der Katalaseaktivität nicht auf, sondern hält solange an, wie das Nachlassen der

Katalaseaktivität dauert. In der dritten Entwicklungsphase beginnt in den von uns untersuchten Kulturen auch der Abbau des Streptomycins. Hier ist also die Streptomycinproduktion am intensivsten, wenn die Katalaseaktivität abzunehmen beginnt (Kurve 3).

Die geschilderten Versuche haben den Beweis erbracht, dass die hohe Katalaseaktivität keine Vorbedingung für die Streptomycinproduktion ist, dass sie aber bei der hochgradigen Streptomycinproduktion in jedem Falle nachweisbar ist, während im Falle minderer Katalaseaktivität die Streptomycinproduktion stets eine geringe ist.

#### LITERATUR

1. HEWITT, L. F. (1950) *Oxidation-reduction potentials in bacteriology and biochemistry*. Livingstone, Edinburgh.
2. KLOSA, I. (1952) *Antibiotika*. Verlag Technik, Berlin.
3. KOVÁCS, E., MATKOVICS, B. (1954) *Felületi és mélykultúrák redoxvizsgálatainak módszere. Über Redoxversuche an Oberflächen- und Tiefkulturen*. *Kísér. Orvostud.*, **6**, 527—530. (Ungarisch ; deutsche Zusammenfassung).
4. KRÁMLI, A. (1954) *Redoxpotential mint indikátor mikroorganismusok anyagcsereszísgálatainál. Redox potential as indicator in examining metabolism of microorganisms*. *Biol. Közl.*, **2**, 7—21. (Ungarisch ; englische Zusammenfassung.)
5. SCHOORL, N. (1929) *Zucker Titration*. *Chem. Weekbl.*, **26**, 130—134.
6. SCHWAAB, M. (1941) *Handbuch der Katalyse*, **3**, Springer Verlag, Wien.
7. STETTER, H. (1951) *Enzymatische Analyse*. Verlag Chemie, Weinheim.

#### ИЗМЕНЕНИЕ КАТАЛАЗОЙ АКТИВНОСТИ В КУЛЬТУРАХ STREPTOMYCES GRISEUS

Между развитием поверхностной культуры *Streptomyces griseus* и его катализной активностью наблюдается определенная связь. Исследование каталазной активности культуры предоставляет возможность для простого определения максимума производства стрептомицина культуры.

#### CHANGES IN CATALASE ACTIVITY IN STREPTOMYCES GRISEUS CULTURES

An interaction seems to exist between the development and the catalase activity of *Streptomyces griseus* surface cultures. An observation of the catalase activity of the culture enables us to ascertain the maximum amount of streptomycin produced by the culture.

ENDRE KOVÁCS, Szeged, Kálmán u. 10, Ungarn

BÉLA MATKOVICS, Szeged, Ságvári E. u. 8, Ungarn



# CHARAKTERISIERUNG DER NATRONGEWÄSSER IN DER UMGBUNG VON KISTELEK AUF GRUND IHRER CHEMISCHEN ZUSAMMENSETZUNG UND IHRER CRUSTACEA-FAUNA

ZSUZSA DVIGHALLY und J. PONYI

FORSCHUNGSIINSTITUT FÜR FISCHZUCHT, BUDAPEST (VORSTAND: R. MAUCHA) UND BIOLOGISCHES  
FORSCHUNGSIINSTITUT DER UNGARISCHEN AKADEMIE DER WISSENSCHAFTEN, TIHANY (VORSTAND:  
E. WOYNAROVICH)

(Eingegangen, am 7. April 1956)

## Zusammenfassung

In kurzer Zusammenfassung der auf einzelnen Natrongebieten der Grossen Ungarischen Tiefebene im Laufe von vier Jahren durchgeföhrten Untersuchungen kann festgestellt werden, dass die Gewässer von Kistelek und Umgebung, auf Grund ihrer chemischen Zusammensetzung und ihrer Crustacea-Fauna, in drei Gruppen zu teilen sind:

1. Natronsalzgewässer. Für ihre chemische Zusammensetzung ist die auffallende Menge  $\text{Na}^+$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$ ,  $\text{HCO}_3^-$  Ionen charakteristisch. Unter den Crustaceaarten sind *Daphnia Atkinsoni*, *Macrothrix hirsuticornis*, *Arctodiaptomus natronophilus*, *Arctodiaptomus Wierzejskii*, *Lymno-cytheren*, vielleicht auch *Branchinecta ferox* als bezeichnend zu erwähnen. Von allen diesen Arten kommen 1—2 Arten massenhaft, oder 3—5 Arten sporadisch in jedem Fall vor.

2. Natrongewässer. Charakteristisch für die chemische Zusammensetzung des Wassers ist die entscheidende Menge von  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Mg}^{++}$ ,  $\text{HCO}_3^-$  Ionen. Es handelt sich meistens um verunreinigte Gewässer, deren bezeichnendstes Tier *Daphnia magna* ist. Von den für die natron-salzhaltigen Gewässer typischen Tieren sind 2—3 Arten sporadisch stets anzutreffen.

3. In diese Gruppe reihen wir die in der Tiefelene anlässlich der Überschwemmungen die Wiesen und Weidenplätze periodisch bedeckenden, weitausgedehnten, seichten Wassertümpel, für die in chemischer Hinsicht die  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Mg}^{++}$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$ ,  $\text{HCO}_3^-$  Ionen charakteristisch sind. Die Tierwelt ist aus der grossen Masse weniger Arten zusammengesetzt. *Eucypris virens*, *Arctodiaptomus Kupelwieseri*, *Cyclops strenuus*.

## Einleitung

Mit der Untersuchung der Natrongewässer in der Umgebung der Gemeinde Kistelek wurde im November des Jahres 1951 begonnen. Über die ersten Ergebnisse dieser Untersuchungen wurde im Jahre 1954 berichtet [18]. Die seither fortgesetzten Untersuchungen bieten uns nun die Möglichkeit, über die dortigen Gewässer — auf Grund ihrer chemischen Eigenschaften bzw. auf Grund der den dortigen Verhältnissen angepassten Crustacea-Fauna — ein einheitliches Bild zu vermitteln. Die Untersuchungen wurden von uns durchgeföhr, um die in europäischer Relation einzig dastehenden ungarischen Natrongewässer charakterisieren zu können, Gewässer, auf die NAUMANN [17] bereits vor 20 Jahren die Aufmerksamkeit der Fachkreise lenkte, als er berichtete, dass es in erster Reihe Aufgabe der ungarischen und sowjetischen Limnologen wäre, die für ihr eigenes Arbeitsgebiet so sehr charakteristischen und verschiedenartigen Salzgewässer zu studieren. Ein weiteres Ziel ist jedoch auch die Differenzierung der einzelnen Grade zu ermöglichen, d. h. zu erreichen, in Zukunft die in Frage

kommenden Natrongewässer nicht mehr mit den Bezeichnungen »stark natronhaltig«, »mittelnatronhaltig« oder »schwach natronhaltig« versehen zu müssen, sondern dieselben auf Grund einiger bezeichnender Crustacea-Arten und der charakteristischen Ione des Wassers bestimmen zu können.

Im Rahmen vorliegender Abhandlung wird im wesentlichen nur eine kurze Skizze der vier Jahre währenden, monographischen Umfang aufweisenden Untersuchung gegeben.

### Hydrographische und topographische Charakterisierung

Die Gemeinde Kistelek liegt im südöstlichen Teil des Raumes zwischen Donau und Theiss, in nördlicher Richtung von Szeged, in einer Entfernung von 30 km von genannter Stadt. Der Erdboden dieses Gebietes gehört zu dem soda-haltigen Untertypus der strukturlosen Natronterraine. Die Gewässer der Umgebung von Kistelek sind in das natronhaltige Wassersystem in der Umgebung von Kiskunhalas, Kiskunsélegyháza und Szeged zu reihen. Sie bilden ein kleineres-grösseres Wassertümpel-System und formen mit den Kanalen zusammen ein einheitliches System. Dieses System wird zum grössten Teil von Seen, Wassersammlungen ständigen Charakters gebildet, die sich in den mehr trockenen Perioden des Jahres, infolge der stärkeren Verdunstung und des Sinkens des Grundwassers, zusammenziehen. Ein grosser Teil der Gewässer in der Umgebung von Kistelek zieht sich in der Richtung nach Szeged, wo der dort befindliche Fehértó die Aufgabe eines grossen Wasserreservoirs erfüllt. (Der Fehértó liegt 80 m über dem Meeresspiegel und ist gleichzeitig der tiefste Punkt der Grossen Ungarischen Tiefebene. Kistelek liegt 92 m über dem Meeresspiegel.) Die von uns untersuchten Seen sind im allgemeinen von Weideplätzen umgeben.

### Material und Methodik

Die chemische Analyse wurde mit Hilfe der MAUCHASCHEN Halbmikro-Feldmethoden durchgeführt [14]. Eine Ausnahme bildet die Bestimmung von  $\text{SO}_4^{2-}$  Ion, die im Laboratorium auf gravimetrischem Wege erfolgte. Der Wert von  $\text{Ca}^{++}$  Ion wurde mit K-Oleat, der von  $\text{Mg}^{++}$  Ion aus der Gesamthärte mit K-Palmitat, der von  $\text{CO}_3^{2-}$  Ion mit HCl und  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , der von  $\text{HCO}_3^-$  Ion mit HCl, der von  $\text{Cl}^-$  Ion mit  $\text{AgNO}_3$ , durch Titrierung bestimmt. Die  $\text{Na}^+$  Ionwerte wurden jedoch stets im Rechnungswege gewonnen. Tabelle 1 zeigt die Ergebnisse der chemischen Analysen, während in Abb. 1 dieselben Resultate mit Hilfe der MAUCHASCHEN [15] Sterndiagramme anschaulich dargestellt sind. Die Sternfigur ist ein in einen Kreis mit Einheitsradius gestelltes regelmässiges Sechzehneck, das den Kreis in acht gleiche Teile teilt. Die vier Sektoren auf der

linken Seite zeigen das gegenseitige quantitative Verhältnis der Anionen (der Reihe nach von oben nach unten:  $\text{CO}_3^{2-}$ ,  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$  Ionen), die vier Sektoren der rechten Seite hingegen das der Kationen (der Reihe nach von oben nach unten:  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{++}$ ,  $\text{Mg}^{++}$  Ionen).

Das Einsammeln der Tiere geschah mit Hilfe der Plankton-Netze Nr. 6, 12 und 18, ihre Fixierung erfolgte in 4%igem Formalin. Im Laufe des Einsammelns wurden auch die auf dem Bewuchs des Röhrichts und des Schilfes lebenden Organismen berücksichtigt. Bei den diesbezüglichen Untersuchungen wurde nach einer gut bewährten Methode vorgegangen [10, 16].

### Die chemischen Verhältnisse

In der Abb. 1 sind alle jene Diagramme einheitlich mit schwarzer Farbe bezeichnet, die die Gewässer mit dem grössten Gesamtsalzgehalt darstellen (Tab. 1, 1—5). Diese Gewässer liegen in der Nähe der Gemeinde, meistens in süd-südöstlicher Richtung von dem Dorfe. Aus den Untersuchungen ging hervor, dass das Wasser des in den Nagyszéktó fliessenden natronhaltigen Kanals (Tab. 1, 3—4), den grössten Gesamtsalzgehalt aufweist. Zur Zeit der Untersuchung war jedoch der Salzgehalt in dem Masse konzentriert, dass das Ergebnis eher auf einen Grenzfall als auf einen ständigen Bestand deutet. In dem 3—4 m breiten und 2—2,5 m tiefen Kanal erreicht die Wasserhöhe kaum 10 cm, die Strömung ist recht schwach. Dieser Kanal führt die periodisch wiederkehrenden Gewässer oberhalb von Kiskunmajsa in den Nagyszéktó. Entlang des Kanals sind aus Erdarbeiten stammende Materialgruben zu finden (Tab. 1, 5). Weder in dem Wasser der Materialgruben noch in dem des Kanals können  $\text{Ca}^{++}$  und  $\text{Mg}^{++}$  nachgewiesen werden.

Unsere Untersuchungen erfassten in erster Reihe und am eingehendsten den Nagyszéktó (Tab. 1, 1), in dem wir den grössten und »natronhaltigsten« See ständigen Charakters der Umgebung zu sehen haben. Er zieht sich in einer ungefähren Länge von 4 km, auf einem Gebiet von 1200 Morgen, südlich von dem Dorf. Auf Grund der monatlich durchgeführten Untersuchungen kann festgestellt werden, dass der Gehalt an  $\text{Na}^+$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$  und  $\text{HCO}_3^-$  um die Mitte des Sommers am grössten ist (im Monate Juli 1552,9 mg/l  $\text{Na}^{++}$ , — 920,9 mg/l  $\text{CO}_3^{2-}$ , — 2356,8 mg/l  $\text{HCO}_3^-$ ). Gegen den Herbst nehmen alle drei Werte allmählich ab. Der Wasserstoffexponent, der  $\text{p}_\text{H}$ -Wert, ist um die Mitte des Sommers am grössten, beträgt 10,56, ist also so gross, dass er mit Hilfe von Phenolphthalein schon nicht mehr, sondern nur mit Alizaringelb bestimmt werden kann. Auch dieser Wert nimmt im Laufe des Sommers allmählich ab und sinkt bis zur Untersuchung im September auf 10,10.

Auch die im Laufe eines Tages eintretende Schwankung der  $\text{O}_2$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$  und  $\text{HCO}_3^-$  Ionen ist im Wasser des Sees bedeutend. Die Änderung in

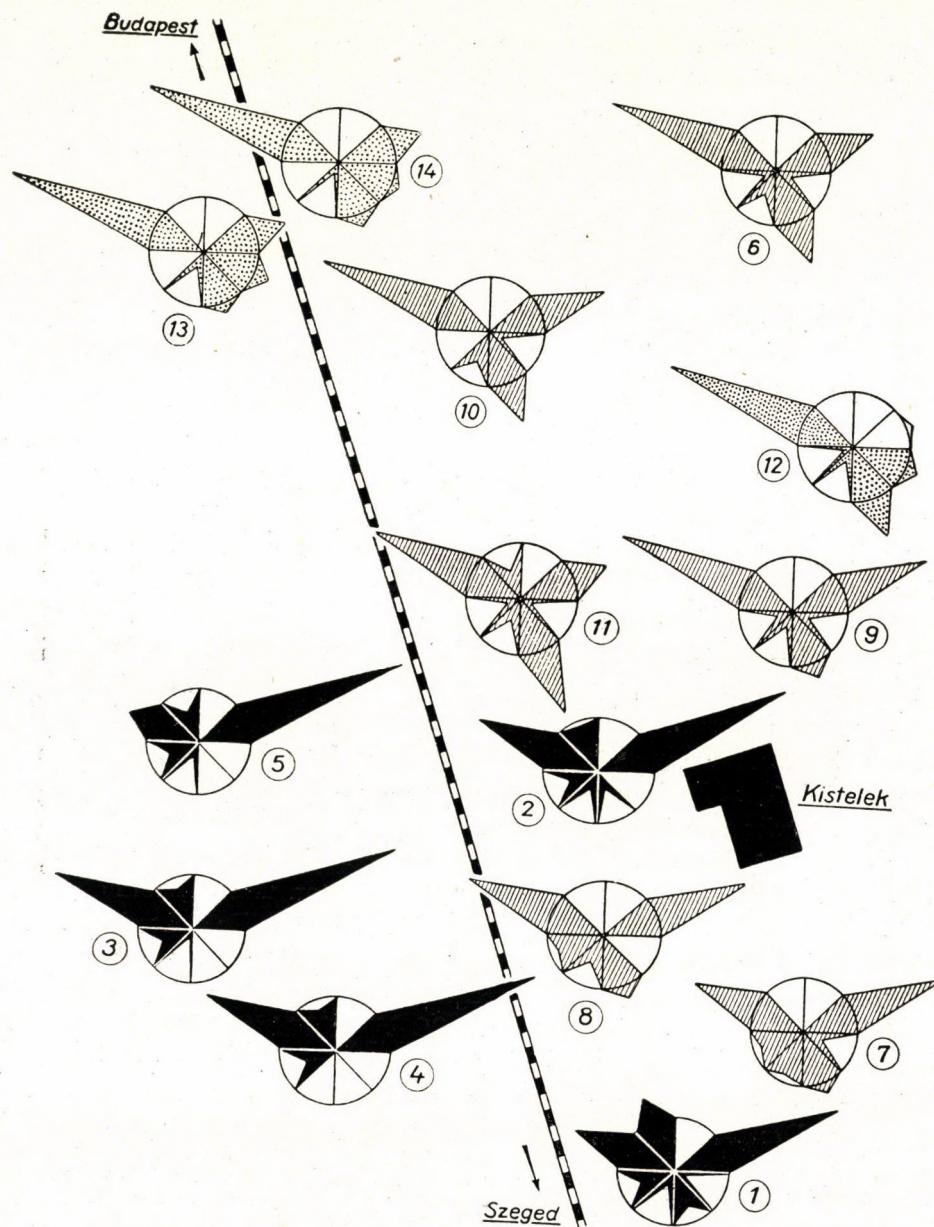


Abb. 1. Erklärung im Text

Tabelle 1

Die absolute Menge der chemischen Bestandteile der Gewässer in mg/l

Nr.	Entnahmestelle des Untersuchungswassers	Zeit der Probeentnahme	pH	Na <sup>+</sup> + K <sup>+</sup>	Ca <sup>+</sup>	Mg <sup>+</sup>	CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Cl <sup>-</sup>	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	Gesamtsalz- gehalt
1	Nagyszéktó bei Kistelek	1955. VII. 25.	10,58	1552,9	15,0	156,6	920,9	2356,8	341,9	102,9	5484,0
2	Kisszéktó bei Kistelek	1955. VI. 12.	10,10	1082,4	0	30,8	363,7	1822,9	189,9	106,7	3596,5
3	Natronhaltiger Kanal I.	1955. VI. 12.	10,10	5990,9	0	0	1488,1	11804,9	1059,5	184,4	19727,8
4	Natronhaltiger Kanal II.	1955. VI. 12.	10,48	7847,8	0	0	2092,6	14001,8	1369,5	156,9	25468,6
5	Lehmgrube	1955. VIII. 30.	9,55	1313,2	0	0	217,9	2047,5	451,9	168,4	3898,9
6	Péteri-See	1955. VIII. 27.	8,24	160,9	19,9	81,9	0	757,2	21,8	78,9	1120,6
7	Malomtó (Mühlenteich) b. Kistelek	1955. VI. 10.	7,85	597,1	37,4	139,6	0	1382,4	294,7	399,1	2850,3
8	Halastó (Fischteich) b. Kistelek	1955. VI. 8.	8,38	266,9	6,6	61,6	0	716,1	127,8	78,9	1257,9
9	Kishalastó (kl. Fischteich) b. Pusztaszer	1955. VI. 8.	8,44	358,8	24,4	93,2	0	1316,4	48,6	73,1	1914,5
10	Abzugskanal oberhalb der Gehöfte von Kiskun- félegyháza	1955. VI. 11.	7,79	232,5	7,5	104,5	0	984,7	5,5	132,9	1467,6
11	Bikalegelő (Stierweide)	1955. VI. 12.	8,96	350,4	9,3	264,6	130,1	1675,9	32,9	198,5	2661,9
12	Kanal von Pusztaszer	1955. VI. 8.	8,38	117,2	117,4	100,6	0	1096,6	6,6	51,1	1489,5
13	Kanal von Petőfiszállás	1955. VI. 11.	7,48	103,7	76,6	40,8	0	672,3	3,2	27,8	924,4
14	Kanal zwischen den Ge- höften von Kiskunfél- egyháza und Petőfi- szállás	1955. VI. 11.	7,58	78,5	50,4	33,8	0	511,3	2,1	12,9	689,0

den  $O_2$ -Werten zeigt im Laufe des Tages an einer Stelle des Sees mit freiem Wasserspiegel, in einer Tiefe von 20 cm, die Form einer Sinuskurve. Das Minimum betrug — anlässlich der am 4—5. Juni 1955 durchgeföhrten Untersuchungen — um 6 Uhr 5 mg/l, das Maximum um 12 Uhr 17 mg/l. Die quantitativen Änderungen der  $CO_3^-$  und  $HCO_3^-$  Werte stehen zueinander im Gegensatz. Beim Eintritt des höchsten  $CO_3^-$  Wertes (um 10 Uhr 440 mg/l), zeigt der  $HCO_3^-$  Wert das Minimum (1180,2 mg/l), und umgekehrt: beim Eintritt des höchsten  $HCO_3^-$  Wertes [um 22 Uhr 2200,0 mg/l] sinkt die Menge von  $CO_3^-$  im Laufe der 24stündigen Untersuchungsperiode — auf den geringsten Wert (50,3 mg/l). Diese starken Schwankungen finden darin ihre Erklärung, dass das Phytoplankton im Laufe seiner Assimilationsfunktion ausschliesslich auf den halb gebundenen  $CO_2$  Vorrat von  $HCO_3^-$  angewiesen ist, da im Wasser freies  $CO_2$  überhaupt nicht vorhanden ist. Entlang des Ufers zieht sich in einer Breite von 20 m ein Schilfgürtel, innerhalb des letzteren ist ein gleichfalls 20 m breiter Binsengürtel (*Bolboschoenus maritimus L.*) von mehr schütterer Substanz zu finden (Tab. 2).

Die örtliche Analyse der gleichzeitig geschöpften Wasserproben lässt erkennen, dass die Abweichung in dem  $p_H$ -Wert und in dem  $O_2$ ,  $CO_3^-$  und  $HCO_3^-$ -Gehalt im Schilf- und Binsen-Gürtel, sowie im Seeteil mit freiem Wasserspiegel sehr bedeutend ist (Tab. 2).

Tabelle 2  
Nagyszéktó bei Kistelek (10. Juni 1955)

	Schilfgürtel	Binsengürtel	Offenes Wasser
pH	8,42	9,78	10,41
$O_2$ mg/l	0,6	1,4	5,9
$CO_3^-$ mg/l	0	280,9	401,1
$HCO_3^-$ mg/l	2421,8	1530,7	1240,3

Eine derartig grosse Abweichung innerhalb der absoluten Mengen der Ionwerte kann damit erklärt werden, dass im Falle der weit ausgedehnten, verhältnismässig seichten Seen mit schwankendem Wasserstand, die Möglichkeit der horizontalen Mischung und somit der Konzentrationskompensation, hauptsächlich infolge der windabwehrenden Wirkung der schilfbedeckten Teile, sehr gering ist. Der See kann sich also in verschiedenen konzentrierten Teile gliedern, in denen die absolute Menge des Salzgehaltes sehr verschieden sein kann, worauf auch WOYNAROVICH bereits hingewiesen hat [26].

Der Nagyszéktó wurde von den Einwohnern des Dorfes früher als Heilquelle verwendet. Alte, volkstümliche Erfahrung berichten von der heilenden Wirkung des natronhaltigen Seewassers. Es ist bekannt, dass Rheuma, Drüsen-

geschwülste, Hautkrankheiten mit Badekuren geheilt werden können. STRAUB analysierte im Juni des Jahres 1953 — zusammen mit mehreren anderen natronhaltigen Seen der Ungarischen Tiefebene — auch das Wasser des Nagyszéktó. Er veröffentlicht die Ergebnisse seiner Untersuchungen in einer nach Salzen gruppierten Form, aber in Ionen-Form umgerechnet ist in dem miteinander verglichenen Verhältnis der Salze zwischen den Ergebnissen von STRAUB und denen der gegenwärtigen Analysen kein wesentlicher Unterschied zu finden. STRAUB wertet das Wasser des Nagyszéktó als jodhaltig. Die Bezeichnung »jodhaltig« gebührt allen Gewässern, die pro Liter wenigstens 1 mg  $J_2$  oder die gleichwertige Menge — 1,18 mg — NaJ enthalten. Der Natriumgehalt des Nagyszéktó beträgt 1,890 mg/l ist also grösser als der des durch seinen Jodgehalt und seine Heilwirkung allgemein bekannten Kakasszék-tó, dessen Jodgehalt nur 1,614 mg/l beträgt.

Für die chemischen Verhältnisse in den genannten Gewässern ist also die dominierende Menge von  $Na^+$ ,  $CO_3^{--}$  und  $HCO_3^-$  Ionen charakteristisch, während die übrigen Bestandteile — im Vergleich zu den eben genannten — in einer verschwindend kleinen Menge vorkommen.

**Tabelle 3**  
*Absolute Menge der chemischen Bestandteile in dem Wasser der in den Halastó von Kistelek mündenden Brunnen*

	Árpád-Brunnen	Malom-Brunnen	Brunnen des Kishalastó
pH	7,80	7,73	7,80
Alkalität	5,24	5,85	4,95
Gesamthärte	4,00	13,51	7,05
$Na^+ + K^+$	12,0	39,5	83,6
$Ca^{++}$	26,8	16,9	1,7
$Mg^{++}$	44,7	48,5	23,1
$CO_3^{--}$	0	0	0
$HCO_3^-$	30,5	356,9	301,5
$Cl^-$	1,4	2,5	1,9
$SO_4^{--}$	23,7	29,9	29,8
Gesamtsalzgehalt	139,1	494,1	441,6

In der Abb. 1 sind die Diagramme jener Natrongewässer mit schwarzer Schraffierung bezeichnet, deren dominierende Ionen  $Na^+$ ,  $Mg^{++}$ ,  $HCO_3^-$  sind (Tab. 1, 6—9).  $Ca^{++}$  Ion und mehr oder weniger auch  $Cl^-$  Ion sind in allen Gewässern zu finden. In diese Gruppe gehören der an der Grenze der Gemeinde sich ausbreitende Malom-tó, der kleine Halastó von Pusztaszer, der in der Umgebung von Kiskunfélegyháza befindliche Péteri-tó (Tab. 1, 6—9). Ge-

wässer ähnlichen Charakters bringt — von Kiskunhalas her — der nördlich der Gehöfte von Kiskunfélegyháza liegende grosse Abzugskanal (Tab. 1, 10) in den Péteri-tó. Auch der Halastó von Kistelek (Tab. 1, 8) gehört in diese Gruppe. Letztgenannter See, der ungefähr 60 Katalstraljoch bedeckt, zieht sich zwischen der Eisenbahnlinie Budapest—Szeged und der Gemeinde Kistelek. Die chemischen Verhältnisse des Halastó werden durch die in ihn mündenden artesischen Brunnen stark beeinflusst. Das Wasser dieser Brunnen entspringt unterhalb der ersten wasserundurchlässigen Bodenschicht, die chemische Zusammensetzung des Wassers ist also anders, als die der Oberflächengewässer (Tab. 3). Der  $\text{Na}^+$  Ionengehalt im Árpádkút und im Malomkút ist — im Vergleich zum  $\text{Mg}^{++}$  Ionengehalt — gering, sodass im südlichen Teil des Sees, wohin das Wasser der genannten Brunnen fliesst, gleichfalls das  $\text{Mg}^{++}$  Ion vorherrschend ist und nicht das  $\text{Na}^+$  Ion, während in den übrigen Teilen des Sees bereits der  $\text{Na}^+$  Ionengehalt überwiegt. Ein Vergleich der Angaben der im Jahre 1952 von DVIHALLY und PONYI durchgeföhrten Analysen [18] und der diesjährigen Untersuchungsergebnisse gestattet die Feststellung, dass die Abweichung in der Menge des Gesamtsalzgehaltes ziemlich bedeutend ist (Tab. 4), obwohl die Analysen in beiden Fällen im Laufe des Sommers durchgeföhr wurden. In der miteinander verglichenen Menge der Salze ist jedoch keine bedeutende Abweichung zu finden.

**Tabelle 4**  
*Chemische Zusammensetzung des Halastó  
von Kistelek (5. August 1952)*

pH	7,65
Alkalität	4,69
Gesamthärte	1,41
$\text{Na}^+ + \text{K}^+$	39,2
$\text{Ca}^{++}$	16,1
$\text{Mg}^{++}$	39,8
$\text{CO}_3^{--}$	0
$\text{HCO}_3^-$	286,2
$\text{Cl}^-$	4,0
$\text{SO}_4^{--}$	46,9
Gesamtsalzgehalt	412,3

Für die auf dem Gebiete der sog. Stierweide (Bikalegelő) anlässlich der Überschwemmungen entstehenden, weite Flächen bedeckenden, periodischen Wassertümpel seichten Charakters ist neben dem  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Mg}^{++}$ ,  $\text{HCO}_3^-$  Ionengehalt auch der von  $\text{CO}_3^{--}$  Ion charakteristisch (Tab. 1, 11).

Schliesslich sind in der Abb. 1. punktiert auch die Diagramme jener Gewässer bezeichnet, die zwar in dem untersuchten Gebiet liegen, doch keinen

Natroncharakter aufweisen (Tab. 1, 12—14). In der Reihe der Anionen ist  $\text{HCO}_3^-$  vorherrschend, doch in ungefähr gleicher Menge sind neben  $\text{Na}^+$  auch  $\text{Ca}^{++}$  und  $\text{Mg}^{++}$  Ionen vorhanden.

### Die Charakterisierung der Crustaceen auf dem untersuchten Gebiet

Nach der Bearbeitung eines reichhaltigen Materials konnte festgestellt werden, dass in Kistelek und Umgebung 83 Crustacea-Arten bzw. Abarten zum Vorschein kamen. Ihre Verteilung nach grösseren Gruppen ist folgende: Anostroaca 3, Notostraca 1, Cladocera 38, Ostracoda 21, Copepoda 18, Isopoda 1, Amphipoda 1. Die ausführliche Liste der Arten ist in Tab. 5 zu finden.

In der Reihe der Cladocera müssen zwei Tiere hervorgehoben werden. Das eine ist eine neue Abart der Stammform *Dunhevedia crassa*, die nach ihrem Entdecker *D. crassa Dvihallyana* genannt wird [19]. Dieses Tier kommt nicht nur in den Natrongewässern der Umgebung von Kistelek vor, sondern auch in den Gewässern bei der Gemeinde Farmos, wo es von KERTÉSZ in grossen Mengen eingesammelt wurde. Aller Wahrscheinlichkeit nach handelt es sich um eine Natrongewässer bevorzugende Art. In Ungarn gehört auch die Stammform selbst, *Dunhevedia crassa* s. str., zu den ganz seltenen Arten. Bisher wird sie von DADAY [5, 6] aus der Umgebung von Kecskemét, Debrecen, Dorozsma, von ÁBRAHÁM, BENDE, HORVÁTH und MEGYERI [2] aus der Umgebung von Putnok erwähnt. Die von DADAY [8] aus der Umgebung des Balatonsees als *Dunhevedia neglecta* beschriebene Art stimmt mit *Dunhevedia crassa* s. str. überein. Das andere Tier trägt den Namen *Simocephalus mixtus hungaricus*. Seine Beschreibung ist in der Abhandlung [21] zu finden. Die Stammform wurde auf Grund einiger weiblicher Individuen von SARS [23] beschrieben. Später berichtet BEHNING [3], dass sie ausserhalb der Mongolei auch an einigen Stellen im Kaukasus zu finden wäre. Auf Grund der zugänglichen Fachliteratur hat es den Anschein, dass *Simocephalus mixtus* s. str. nur aus der Sowjetunion bekannt ist und in den übrigen europäischen Ländern überhaupt nicht vorkommt. Weder die Stammform, noch die Abart bevorzugen Natrongewässer. Das Vorkommen von *Simocephalus mixtus hungaricus* ist — auf Grund der bisherigen Fundorte — an eine gewisse Menge von Crustaceen gebunden. In der Umgebung von Kistelek wurde die Art nur in Gewässern gesammelt, die über keinen Natron-, hingegen über einen ziemlich grossen  $\text{Ca}^{++}$  Iongehalt verfügten. Den zweiten bekannten Fundort bildet die Bükker Hochebene mit stark  $\text{Ca}^{++}$  ionhaltigen Gewässern (Leg. und Det. PONYI).

Bei den Ostracodae erwies sich der Fund der *Candona hungarica* als interessant. Dieses Tier wurde von DADAY aus der Umgebung von Kecskemét beschrieben [7]. Nachher wurde das Tier von keinem einzigen Forscher mehr beobachtet und auch in der ausländischen Fachliteratur wird es nirgends erwähnt. Scheinbar handelt es sich hier um ein für Ungarn charakteristisches Tier.

## Tabelle 5

## Liste der aufgefundenen Crustacea-Arten

- Entomostraca**
- Phyllopoda
1. *Branchinecta ferox* (M. EDWARDS)
  2. *Chirocephalus spinicaudatus* SIM.
  3. *Pristicephalus carnuntanus* (BRAUER)
  4. *Triops cancriformis* BOSC.
- Cladocera
5. *Diaphanosoma brachyurum* LIÉVEN
  6. *Daphnia magna* STRAUS
  7. *D. Atkinsonii* BAIRD
  8. *D. carinata* KING
  9. *D. pulex* (DE GEER)
  10. *D. pulex obtusa* KURZ
  11. *D. longspina typica* O. F. MÜLLER
  12. *D. l. caudata* SARS
  13. *D. l. pulchella* SARS
  14. *Ceriodaphnia reticulata* (JURINE)
  15. *C. quadrangula* (O. F. MÜLLER)
  16. *C. pulchella* SARS
  17. *Moina rectirostris* (LEYDIG)
  18. *M. brachiatia* (JURINE)
  19. *M. macrocoda* STRAUS
  20. *Scapholeberis mucronata* (O. F. MÜLLER)
  21. *Sc. Kingi* SARS
  22. *Sc. aurita* (FISCHER)
  23. *Simocephalus vetulus* (O. F. MÜLLER)
  24. *Simocephalus mixtus hungaricus* PONYI
  25. *S. expinosus* (KOCH)
  26. *S. expinosus* var. *congener* SCHÖDLER
  27. *S. serrulatus* (KOCH)
  28. *Bosmina longirostris pellucida* STINGELIN
  29. *Macrothrix hirsuticornis* NORMAN & BRADY
  30. *M. rosea* (JURINE)
  31. *Peracantha truncata* (O. F. MÜLLER)
  32. *Dunhevedia crassa Dvihallyana* PONYI
  33. *Pleuroxus uncinatus* BAIRD
  34. *P. aduncus* (JURINE)
  35. *Leydigia Leydigii* (SCHÖDLER)
  36. *Alona rectangularis* SARS
  37. *A. tenuicaudis* G. O. SARS
  38. *A. quadrangularis* (O. F. MÜLLER)
  39. *Alonella excisa* (FISCHER)
  40. *Chydorus globosus* BAIRD
  41. *Ch. sphaericus* (O. F. MÜLLER)
  42. *Ch. latus* SARS
- Ostracoda
43. *Ilyocypris Bradyi* G. O. SARS
44. *I. inermis* KAUFMANN
45. *Cypris pubera* O. F. MÜLLER
46. *Eucypris crassa* (O. F. MÜLLER)
47. *E. serrata* (G. W. MÜLLER)
48. *E. ornata* (O. F. MÜLLER)
49. *E. elliptica* (BAIRD)
50. *E. virens* (JURINE)
51. *E. virens* f. *media* (G. W. MÜLLER)
52. *Cyclocypris ovum* (JURINE)
53. *Cypria exculta* (FISCHER)
54. *Candonia marchica* HARTWIG
55. *Candonia rostrata* BRADY & NORMAN
56. *C. Sarsi* HARTWIG
57. *C. Hartwigi* G. W. MÜLLER
58. *C. Welterni* HARTWIG
59. *C. neglecta* G. O. SARS
60. *C. fragilis* HARTWIG
61. *C. hungarica* DADAY
62. *Candonopsis Kingsleii* (BRADY & ROBERTSON)
63. *Limnocythere inopinata* (BAIRD)
- Copepoda
64. *Hemidiaptomus amblyodon* MARENZELLER
  65. *Eudiaptomus gracilis* G. O. SARS
  66. *Arctodiaptomus Wierzejskii* J. RICHARD
  67. *A. spinosus* DADAY
  68. *A. natronophilus* PONYI
  69. *Mixodiaptomus Kupelwieseri* BREHM
  70. *Macrocyclops fuscus* (JUR.)
  71. *Eucyclops serrulatus* (FISCH.)
  72. *Cyclops strenuus* FISCH.
  73. *C. vicinus* ULJAN.
  74. *Acantocyclops viridis* (JUR.)
  75. *A. bicuspis* (CLAUS)
  76. *A. bisetosus* (REHB.)
  77. *Acantocyclops languidus* (SARS)
  78. *Microcyclops minutus* CLAUS
  79. *Mesocyclops* (s. str.) *Leuckarti* CLAUS
  80. *Nitocra* sp.
  81. *Canthocamptus* (s. str.) *staphylinus*  
*staphylinus* (JURINE)
- Malacostraca
- Isopoda
82. *Asellus aquaticus* (L.) RACOV.
- Amphipoda
83. *Synurella ambulans* FR. MÜLLER

Die Copepodae, aber in der Reihe der Crustaceen vielleicht auch die *Diaptomus*-Gattung, nehmen in der Charakterisierung der Natrongewässer den wichtigsten Platz ein. Die Untersuchungen [20] stellen fest, dass in den Natrongewässern der Grossen Ungarischen Tiefebene das massenhafte Vorkommen irgendeiner Art von *Arctodiaptomus natronophilus*, L. (*Neolovenula*) *Alluaudi*, *Hemidiaptomus amblyodon*, *Arctodiaptomus spinosus*, *Arctodiaptomus Wierzejskii*, oder das gemeinsame sporadische Vorkommen von 3—4 Arten auf den typischen Charakter natronhaltiger Gewässer deutet.

Die vier Jahre währende Untersuchung der Natrongewässer von Kistelek, die Überprüfung des von anderen Autoren, hauptsächlich von WOYNAROVICH und KERTÉSZ gesammelten, sich auf die ganze Ungarische Tiefebene erstreckenden Materials aus Natrongewässern, beweisen, dass die Crustacea-Fauna aus genannten Gewässern — offenbar infolge der übereinstimmenden Umweltverhältnisse — eine grosse Ähnlichkeit mit den mittelasatischen Natrongewässern aufweist. In Mittelasien sind die von *Daphnia Atkinsonii*, *Daphnia carinata*, *Macrothrix hirsuticornis*, *Arctodiaptomus spinosus*, *Arctodiaptomus Wierzejskii* usw. gebildeten Populationen ebenso anzutreffen, wie bei uns. Es gibt Arten, die sich fast gegenseitig vertreten, so lebt z. B. in den asiatischen Natrongewässern das *Arctodiaptomus acutilobatus* genannte Tier. Bei uns ist dieses Tier bisher nicht zu finden, sondern das der Art nahe stehende, *Arctodiaptomus natronophilus* PONYI genannte Tier. Auch KERTÉSZ beweist im wesentlichen die Richtigkeit obiger Ausführungen, wonach die Natrongewässer über eine bezeichnende Fauna verfügen, deren Entstehung vor allem auf die Anwesenheit von  $\text{NaHCO}_3$  zurückgeführt werden kann. Auf diese Weise ist es möglich, dass sich in Mittelasien und in Ungarn eine ähnliche Crustacea-Population entwickeln kann.

DADAY erbrachte bereits im Jahre 1893 [6] den Nachweis, dass der eigenartige Charakter der Natrongewässer bloss durch das ständige Vorkommen von einigen bestimmten, der Anzahl nach wenigen Arten gegeben wird. Die von STILLER [24] und GELEI [11] veröffentlichten Protozoen-Untersuchungen, sowie die — hauptsächlich in den letzten Jahren — vom Zoo-systematischen Institut der Universität (Budapest) durchgeföhrten Untersuchungen von Natrongewässern bestätigten nur in verstärktem Masse die obige, die Fauna der Natrongewässer betreffende Feststellung von DADAY, modifizierten aber auch in gewissem Sinne die Ansicht von DADAY, da uns jetzt bereits viele Natrongewässer bevorzugende Arten bekannt sind. Ausser den bereits erwähnten Arten seien hier von den interessantesten noch einige angeführt. GELEI beschrieb acht neue aus Natrongewässern stammende Arten, STILLER hingegen 1 neue Gattung und 5 neue Arten. Aus den Natrongewässern bei Farmos ist uns die Abart *Scapholeberis echinulata* Kertész [19] bekannt. Von KERTÉSZ [13] wurde kürzlich die gleichfalls aus den Gewässern bei Farmos stammende Art *Pristicephalus hungaricus* beschrieben. Am gleichen Fundort kam auch eine neue Nematoda, *Radopholus gigas* [1] zum Vorschein.

Das Gedeihen der von BOROS [4] untersuchten *Pristicephalus carnuntanus* ist ebenfalls an die Natrongewässer der Szegeder Umgebung gebunden. Die Untersuchungen bewiesen, dass in den bis heute kaum untersuchten Gruppen, wie z. B. bei den Hydracarinae, Natrongewässer bevorzugende Arten zu finden sind, von denen als Beispiel die *Hydryphantes (Polyhydryphantes) lamellatus* genannte Art angeführt sei [22].

### Allgemeine Folgerungen

Die in Kistelek und Umgebung durchgeföhrten Untersuchungen boten die Möglichkeit, eine Typisierung der dortigen Gewässer, bzw. ihre gruppenweise Einteilung, auf Grund gewisser Crustacea-Populationen und chemischer Merkmale, zu versuchen. Diese Gruppen können vielleicht — mit geringeren Ergänzungen und Modifikationen — für die Natrongewässer der ganzen Ungarischen Tiefebene Geltung haben, da bei der Aufstellung der Gruppen auch zahlreiche, aus anderen Fundorten stammende Proben berücksichtigt wurden, so z. B. das von KERTÉSZ nahezu drei Jahre lang systematisch gesammelte Material aus der Umgebung von Farmos, sowie jenes von WOYNAROVICH, das fast das ganze Gebiet des Landes erfasst. Wir sprechen den beiden Forschern auch an dieser Stelle unseren Dank aus. Neben dem oben angeführten Material stehen uns auch Sammlungen bzw. Proben aus dem Sóstó bei Lajosmizse, aus Kakasszék, aus dem See bei Szelidi, aus dem Fehértó und Sóstó bei Albertfalva usw. zur Verfügung.

Die Gewässer von Kistelek und Umgebung können auf Grund des Chemismus des Wassers, auf Grund der Zusammensetzung der Crustacea-Fauna in vier Gruppen geteilt werden. Die Namen der ersten und zweiten Gruppe wurden von WOYNAROVICH übernommen [26].

1. Natronalsalzgewässer (Tab. 1, 1—5). Die chemische Zusammensetzung des Wassers wird durch die auffallende Menge von  $\text{Na}^+$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$ ,  $\text{HCO}_3^-$  Ionen charakterisiert. Von den Crustaceen sind *Daphnia Atkinsonii*, *Macrothrix hirsuticornis*, *Arctodiaptomus natronophilus*, *Arctodiaptomus Wierzejskii*, *Limnocythere* Arten, vielleicht noch *Branchinecta ferox* bezeichnend. Von diesen Arten sind 1—2 Arten massenhaft oder 3—5 Arten vereinzelt stets anzutreffen.

2. Natrongewässer (Tabelle 1, 6—10). Charakteristisch für die chemische Zusammensetzung des Wassers ist die entscheidende Menge von  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Mg}^{++}$ ,  $\text{HCO}_3^-$  Ionen. Diese Gewässer sind zum grössten Teil stark verunreinigt, da sie meistens als Tummelplatz, Schwimmplatz der Enten dienen. Hier erscheint auch die verunreinigte Gewässer bevorzugende Makroflora, wie z. B. *Fanunculus trichophyllus*, was von TIMÁR (mündliche Mitteilung) festgestellt wurde. In dem Wasser sind ausser *Daphnia magna* — welches Tier eines der bezeichnendsten in den Gewässern dieser Gruppe ist — noch Schilf und Röhricht bevorzugende

Arten, wie z. B. *Simocephalus vetulus* und einzelne *Alona*-Arten anzutreffen. Natürlich sind hier, da es sich — wenn auch in geringerem Masse — um Gewässer mit Natroncharakter handelt, allerdings nur sporadisch, auch 2—3 Arten von den Tieren der Natronsalzgewässer zu finden.

3. Der Typus der weitausgedehnten, seichten Wassertümpel periodischen Charakters stimmt im wesentlichen mit dem von VARGA [25] erwähnten »Morast« (= »tocsgó«) überein, nur mit dem Unterschied, dass es sich bei ersteren um Überschwemmungen der Wiesen, Weideplätze in der Tiefebene handelt. Das Wasser zeigt stets eine gelbbraune Farbe, für seine chemische Zusammensetzung ist die auffallende Menge von  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Mg}^{++}$ ,  $\text{CO}_3^{--}$ ,  $\text{HCO}_3^-$  Ionen charakteristisch. Die Fauna besteht aus grossen Mengen weniger Arten: *Eucypris virens*, *Arctodiaptomus Kupelwieseri*, *Cyclops strenuus* (Tab. 1, 11).

Ausser den Gewässern, die in die obigen drei Gruppen gereiht werden können, wurden auf diesem Gebiet auch solche Gewässer untersucht, die sowohl auf Grund ihrer chemischen Eigenschaften, als auch auf Grund ihrer Crustacea-Fauna, von den genannten Typen stark abweichen (Tab. 1, 12—14). Bei diesen, oftmals ständigen Charakter aufweisenden Gewässern handelt es sich grösstenteils um Kanäle, die in einer Länge von mehreren km, zu beiden Seiten des Eisenbahndamms verlaufen. Für das Wasser ist das entscheidende Vorkommen von  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{++}$ ,  $\text{Mg}^{++}$ ,  $\text{HCO}_3^-$  Ionen charakteristisch, doch  $\text{CO}_3^{--}$  Ion ist nicht vorhanden. Unter den Crustaceen dieser Gewässer sind die Natrongewässer bevorzugenden Arten überhaupt nicht anzutreffen. In dominierender Menge sind *Simocephalus mixtus hungaricus*, *Cyclops strenuus*, *Synurella ambulans* zu finden.

#### LITERATUR

1. ANDRÁSSY, I. (1952) Drei neue Arten aus der Superfamilie Tylenchoidea. *Ann. Biol. Univ. Hung.*, **2**, 9—15.
2. ÁBRAHÁM, A., BÉNDE, S., HORVÁTH, A., MEGYERI, J. (1951) Adatok Putnok környékének hydrobiológiai vizszonyaihoz. Beiträge zur Kenntnis der hydrobiologischen Verhältnisse der Umgebung von Putnok (Oberungarn). *Ann. Biol. Univ. Hung.*, **1**, 341—350. (Ungarisch; deutsche Zusammenfassung.)
3. Бенинг, А. Л. (1941) Кладоцера Кавказа. Грузмегиз, Тбилиси.
4. BOROS, L. (1929) *Pristicephalus carnuntanus* emésztő készülékeknek anatómiai, szövettani vizsgálata. Anatomische und histologische Untersuchungen über den Verdauungsapparat von *Pristicephalus carnuntanus*. *Acta Biol. Szeged*, **1**, 127—191. (Ungarisch.)
5. DADAY, J. (1896) Crustacea Cladocera Faunae Hungaricae. Magyar Természtetudományi Társulat Kiad., Budapest. (Ungarisch und lateinisch.)
6. DADAY, J. (1893) Beiträge zur Kenntnis der Mikrofauna der Natronwässer des Alföldes. *Math. Term. tud. Ért.* **12**, 286—321.
7. DADAY, J. (1900) Ostracoda Hungariae. Magyar Tud. Akad., Budapest. (Ungarisch und lateinisch.)
8. DADAY, J. (1904) Mikroskopische Süßwassertiere der Umgebung des Balaton. *Zool. Jahrb. (Syst.)*, **19**, 37—98.
9. DVIHALLY, Zs., PONYI, J. (1956) Adatok a Vörösvári völgy hidrobiológiai vizszonyaihoz. Zu den hydrobiologischen Verhältnissen des Vörösvári Tales. *Hidrol. Közl.*, **36**, 211—217. (Ungarisch; deutsche und russische Zusammenfassung.)
10. ENTZ, B. (1947) Qualitative and quantitative studies in the coatings of *Potamogeton perfoliatus* and *Myriophyllum spicatum* in lake Balaton. *Annal. Biol. Tihany*, **17**, 17—37.

11. GELEI, J. (1951) Néhány szó a csillósok Trichostomata alrendjének rendszertanához. Einiges über die Systematik der Unterordnung Trichostomata der Ciliaten. *Ann. Biol. Univ. Hung.*, **1**, 351—360. (Ungarisch; deutsche Zusammenfassung.)
12. KERTÉSZ, G. (1955) Die Anostraca-Phyllopoden der Natrongewässer bei Farmos. *Acta Zool. Hung.*, **1**, 309—321.
13. KERTÉSZ, G. (1956) A new Anostraca species belonging to the genus *Pristicephalus* (Phyllopoda). *Acta Zool. Hung.*, **2**, 193—198.
14. MAUCHA, R. (1947) Hydrochemische Halbmikro-Feldmethoden. *Arch. Hydrobiol.*, **41**, 352—391.
15. MAUCHA, R. (1947) Újabb szempontok a vizek termelőképességének megállapítására. Neuere Gesichtspunkte zur Feststellung der Produktionsfähigkeit der Gewässer. *Magyar Kémikusok Lapja*, **2**, 293—297, 324—329, 350—354. (Ungarisch; deutsche Zusammenfassung.)
16. MESCHKAT, A. (1934) Der Bewuchs in den Röhrichten des Balatonsees. *Arch. Hydrobiol.*, **27**, 436—517.
17. NAUMANN, E. (1932) Grundzüge der regionalen Limnologie. Schweizerbart, Stuttgart.
18. PONYI, J., DVIHALLY, Zs. (1954) Hidrobiológiai vizsgálatok a kisteleki Halastavon. Hydrobiologische Untersuchungen am Halastó (Fischerteich) von Kistelek. *Eötvös L. Tud. Egyetem T. T. K. Évkönyve*, 115—130. (Ungarisch.)
19. PONYI, E. (1955) Neue Cladocera-Formen aus Ungarn. *Zool. Anz.*, **155**, 312—317.
20. PONYI, E. (1956) Die *Diaptomus*-Arten der Natrongewässer auf der Grossen Ungarischen Tiefebene. *Zool. Anz.*, **156**, 257—271.
21. PONYI, E. (1956) Eine neue interessante Form von *Simocephalus* (Crustacea, Cladocera) aus Ungarn. *Zool. Anz.*, **157**, 56—59.
22. PONYI, L. (1956) Neuere Hydrachnellen-Arten aus Ungarn. *Ann. Nat. Mus. Nat. Hung.*, **7**, 443—450.
23. SARS, G. O. (1903) On the Crustacea fauna of Central Asia. *Ann. Mus. Zool. St. Petersbourg*, **8**, 157—264.
24. STILLER, J. (1941) Einige Gewässer der Umgebung von Szeged und ihre Peritrichenfauna. *Arch. Hydrobiol.*, **38**, 313—435.
25. VARGA, L. (1954) A „tó” fogalmáról, figyelemmel hazai állóvizeinkre. Zur Frage des See-Begriffes, mit besonderer Berücksichtigung der ungarischen stehenden Gewässer. *Állatt. Közl.*, **44**, 243—255. (Ungarisch; deutsche Zusammenfassung.)
26. WOYNAROVICH, E. (1941) Néhány magyarországi víz kémiai sajátságairól. Untersuchungen über die chemischen Eigenschaften einiger ungarischer Gewässer. *Annal. Biol. Tihany*, **8**, 302—315. (Ungarisch; deutsche Zusammenfassung.)

## ХАРАКТЕРИСТИКА ЗАСОЛЕННЫХ ВОДОЕМОВ В ОКРЕСТНОСТИ С. КИШТЕЛЕК, НА ОСНОВАНИИ ИХ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА И ФАУНЫ РАКООБРАЗНЫХ

Резюмируя свои исследования, проведенные в отдельных засоленных областях Большой Венгерской низменности, авторы устанавливают, что на основании химического состава и популяции ракообразных засоленные водоемы в окрестности с. Киштелек можно отнести в три группы:

1. Содовые воды. Их химический состав характеризуется преобладанием количества  $\text{Na}^+$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$ ,  $\text{HCO}_3^-$ . Характерные виды ракообразных следующие: *Daphnia Atkinsonii*, *Macrothrix hirsuticornis*, *Arctodiaptomus natronophilus*, *Arctodiaptomus Wierzejskii*, *Limnocythere*, иногда *Branchinecta ferox*. Во всех случаях наблюдается либо массовое появление 1—2 из этих видов, либо спорадическое появление 3—5 из них.

2. Засоленные воды. Химический состав характеризуется присутствием решающего количества  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Mg}^{++}$ ,  $\text{HCO}_3^-$ . Эти воды в большинстве случаев загрязнены. Самым характерным видом их фауны является *Daphnia magna*. Всегда обнаруживаются спорадическое присутствие 2—3 видов животных, типичных для содовых вод.

3. Талые воды. Затопления лугов и пастбища на Большой венгерской низменности. Химически они характеризуются ионами  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Mg}^{++}$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$ ,  $\text{HCO}_3^-$ . Фауна состоит из немногочисленных видов с большой массой особой: *Eucypris virens*, *Arctodiaptomus Kupelwizezri*, *Cyclops strenuus*.

A DESCRIPTION OF THE SODIUM-BEARING WATERS IN THE NEIGHBOURHOOD  
OF KISTELEK ON THE EVIDENCE OF CHEMICAL PROPERTIES  
AND CRUSTACEAN FAUNA

On the strength of investigations conducted during four years over certain areas of the Great Hungarian Plain covered by alkali soil, the salt waters at and near Kistelek can be divided into three groups in accordance with their chemical composition and the crustacean population they contain:

1. Sodium-salt waters. Chemical composition characterized by the predominance of  $\text{Na}^+$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$ , and  $\text{HCO}_3^-$  ions. Characteristic species of crustaceans are: *Daphnia Atkinsonii*, *Macrothrix hirsuticornis*, *Arctodiaptomus natronophilus*, *Arctodiaptomus Wierzejskii*, *Limnocythere*, and occasionally *Branchinecta ferox*. One or two of these species represented in abundance, three to five species sporadically in every case.

2. Alkali waters. Chemical composition characterized by the predominance of  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Mg}^{++}$  and  $\text{HCO}_3^-$  ions. Mostly contaminated waters. Characteristic animal: *Daphnia magna*. Two or three species of those enumerated under 1. sporadically represented in every case.

3. Marshes. Inundated meadow soil. Chemically characterized by the presence of  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Mg}^{++}$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$ , and  $\text{HCO}_3^-$  ions. Fauna composed of few species in great masses: *Eucypris virens*, *Arctodiaptomus Kupelwieserii*, *Cyclops strenuus*.

ZSUZSA DVIHALLY, Budapest, II., Herman O. út 15, Ungarn.

JENŐ PONYI, Tihany, Biológia, Ungarn.



# DETERMINATION IN DER ENTWICKLUNG DER SUCTORIEN

## I. DIE DETERMINATION DER STELLE DER EMBRYOORGANISIERUNG

J. KORMOS und KATALIN KORMOS

INSTITUT FÜR SYSTEMATISCHE ZOOLOGIE DER UNIVERSITÄT, SZEGED (VORSTAND: G. KOLOZSVÁRY)

(Eingegangen am 9. Mai 1956)

### Zusammenfassung

Die Abhandlung beschäftigt sich — auf Grund von Beispielen verschiedener Entwicklungsweisen — mit dem Zusammenhang, der zwischen dem schwärmerzeitlichen Ciliengürtel und der Bildungsstelle des neuen Schwärmers besteht.

Bei *Podophyra libera* und *P. parasitica* bestimmt der Ciliengürtel — mit einer den Ciliemeridianen der Ciliaten ähnlichen Fähigkeit — im voraus den Ciliengürtel des neuen Schwärmers und in demselben die Stelle der Vakuole und der Scopula.

Ähnlich den die Organisierung der Ciliaten regulierenden Meridianen ist auch der Ciliengürtel des Schwärmers von *P. fixa* und *P. bera* polarisiert, da die Scopula und die Vakuole im Laufe der Metamorphosen in derselben Richtung ihre Stelle wechseln. Nach der Metamorphose wird im schwärmerzeitlichen Ciliengürtel die Organisationsstelle des neuen Schwärmers durch die Polarität des entwickelten Tieres bestimmt. Die unmittelbare Auslösung der Organisierung kann weder im Wege des kortikalen Gitters, noch im Wege der Kinetosomen erfolgen.

Mit der Spezifizierung der Entwicklung nimmt die determinierende Rolle des schwärmerzeitlichen Ciliengürtels allmählich ab und kann schliesslich auch ganz verschwinden. In solchen Fällen kommt die im Laufe der Metamorphose auftretende, ihrem Wesen nach noch unbekannte polare Gradienten in der Bestimmung der Organisationsregion ausschliesslich vor.

### Einleitung

Die Frage der Determination der Suctorianen kann von zwei Gesichtspunkten gestellt werden. Phylogenetisch betrachtet können wir fragen, wie sich jene Determination in der Entwicklung der Organellen ergab, die bei den Ciliaten in dem Nacheinander der Zweitteilungen oft mit ganz aussergewöhnlicher Genauigkeit in Erscheinung tritt. Entwicklungsmechanisch untersucht, kann sich die Frage ergeben, auf welche Weise und unter welcher Einwirkung sich der Nachkomme im Muttertier oder ausserhalb desselben, in einer von dem Muttertier zwar abweichenden, aber für die Art stets charakteristischen Konstitution organisiert.

Natürlich hat jede der beiden Frage ihre entwicklungsmechanische und ihre phylogenetische Seite. In vorliegender Arbeit werden von den Verfassern die Beobachtungen beschrieben, die in der Frage der Determination der Schwärmerbildung richtungweisend sind. In früheren Abhandlungen wurde auch die Frage der Determination von uns erörtert, doch — einerseits — müssen die damaligen Mitteilungen mit den Ergebnissen der neuen Untersuchungen er-

gänzt werden, anderseits erscheint es uns zeitgemäß, dieselben auf Grund jener Erfahrungen zu vergleichen und auszuwerten, die in bezug auf die Morphogenese der Ciliaten in der Fachliteratur zu finden sind.

### Untersuchungsmaterial und Methodik

Leider konnten nur Süßwasser-Suctorien untersucht werden. Die im Meer lebenden Arten (*Tachyblaston*, *Ephelotidae*, *Ophryodendridae* usw.) können — so nützlich auch die unmittelbare Untersuchung ihrer eigenartigen Morphogenese wäre — nur auf Grund der Mitteilungen in der Fachliteratur gewertet werden. Von den Süßwasser-Suctorien wurden in erster Reihe die Vertreter der verschiedenen Entwicklungstypen für unsere Untersuchungen ausgewählt. Wir beschäftigten uns vor allem mit folgenden Arten: *Podophrya fixa*, *P. libera*, *P. parasitica*, *Tokophrya lemnanum*, *T. quadripartita*, *T. cyclopum*, *T. infusionum*, *Acineta tuberosa*, *Prodiscophrya collini*, *Pr. endogama*, *Discophrya ichtensteinii*, *D. astaci*, *D. linquifera*, *Urnula epistylidis*. Ausser diesen wurden noch andere Arten untersucht, auf die an der entsprechenden Stelle des Textes stets hingewiesen wird.

Die Einzelheiten der Entwicklung wurden an lebenden Tieren untersucht. Die zur Ergänzung nötigen Präparate wurden mit Versilberung (mit dem Verfahren von GELEI—HORVÁTH und KLEIN), mit Hilfe der HEIDENHAINSchen Eisenalaun-Hämatoxylin-Methode, mit der Triacid-Färbung von EHRLICH—BONDI und mit der FEULGEN-Methode hergestellt.

### Die Beschreibung der Untersuchungen

#### *Die Schwärmerbildung von Podophrya libera und P. parasitica. Vergleich der Zweiteilung der Ciliaten und Podophryen*

Die Vermehrung und die reorganisatorische Schwärmerbildung von *Podophrya libera* — in deren Verlauf sich das ganze Tier in einen Schwärmer verwandelt — wurden von uns bereits früher beschrieben [9, 11]. Aus den damaligen Beschreibungen seien hier zwei Einzelheiten besonders hervorgehoben:

1. Der Ciliengürtel des Schwärmers entwickelt sich auch dann in dem die Spitze des entwickelten Tieres, die Pulsationsvakuole und den Stielbildner verbindenden Gürtel, wenn der neue Schwärmer aus der Zweiteilung des entwickelten Tieres stammt, sowie auch dann, wenn sich das ganze entwickelte Tier in einen Schwärmer verwandelt.

2. Bei der Entwicklung des Schwärmers entsteht die neue pulsierende Vakuole stets im Ciliengürtel, oberhalb des alten Gebildes. Auch die Scopula entwickelt sich im Ciliengürtel.

In Ergänzung obiger Einzelheiten sei noch folgendes mitgeteilt.

Das sich mehrmals nacheinander in seiner Gänze in einen Schwärmer verwandelnde Tier bewahrt auch nach der oftmaligen Metamorphose die Determination des Ciliengürtels (Abb. 1). Der Ciliengürtel entwickelt sich stets in demselben Meridian, der — auch bei den erwachsenen Suctorien — in dem durch die Scopula, durch die Vakuole und durch die Spitze verlaufenden Streifen bezeichnet werden kann.

Wir halten *Podophrya libera* seit zwei Jahren in einer Kultur. Während dieser Zeit wurden zahlreiche Schwärmer beobachtet und in allen Fällen die Erfahrung gemacht, dass die relative Lage der Vakuole, des Stielbildners und des Ciliengürtels übereinstimmt. Zuletzt konnten wir bei 100 Schwärmern einer Population dieselbe, in Abb. 1 gezeigte Anordnung feststellen. Offenbar handelt es sich bei dieser Ortsgebundenheit der Organellen sicherlich um eine Vererbung,

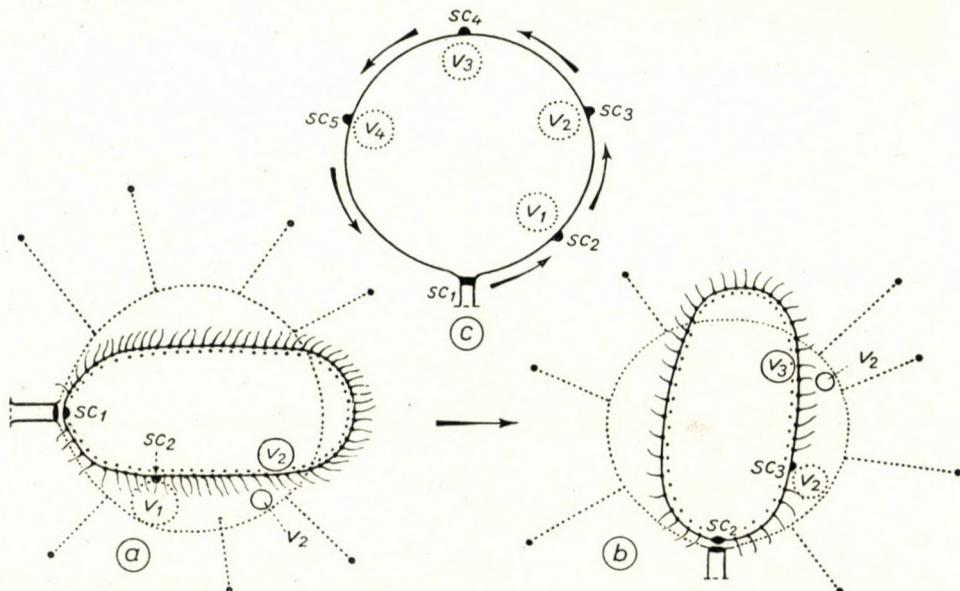


Abb. 1. Die sich mehrmals nacheinander wiederholende reorganisatorische Schwärmerbildung vom *Podophrya libera*. Die Zeichnungen zeigen die nach den Metamorphosen entstandenen Verschiebungen in der Stelle der alten und der neuen Scopula und der Exkretionspore der Vakuole.  $V_1$ – $V_4$  die Vakuolen in der Reihenfolge ihrer Bildung.  $SC_1$ – $SC_5$  die Scopulae gleichfalls in der Reihenfolge ihrer Bildung. a–b Die Stellenveränderung der Scopula und der Vakuole in zwei nacheinander folgenden Metamorphosen. c – Relative Stellenveränderung der Scopula und der Vakuole im Laufe einer vierfachen Schwärmerumbildung (Schematische Abbildung)

wonach sich auf dem entwickelten Tier an einer im voraus bestimmten Stelle die Ciliatur, die Vakuole und die Scopula bilden.

Die andere, in ähnlicher Richtung untersuchte Art war *P. parasitica*. Dieses Tier lebt nach der Metamorphose als Parasit in *Paramecium* [4, 8, 13]. Es handelt sich um einen Ektoparasit, obwohl er durch die pellikuläre Vertiefung des Wirtstieres in den Körper desselben sinken kann, sodass er schliesslich nur durch eine ganz schmale Öffnung mit der Aussenwelt in Verbindung bleibt. An dem Wirtstier haftet der Parasit mit Hilfe der früh erscheinenden Saugtentakel. Letztere befinden sich gleichermassen am vorderen und hinteren Ende des Schwärmers, so dass die Anhaftung auf vielerlei Art möglich ist. Der Schwärmer kann mit dem vorderen oder mit dem hinteren Ende anhaften, doch auch an das Paramecium selbst auf die Weise, dass er das Wirtstier in seiner ganzen

Länge berührt, und zwar entweder mit der den Ciliengürtel tragenden Kante oder mit der flachen Seite. Offenbar ist die mit dem Wirtstier in Berührung kommende Fläche des während des Saugens sich abrundenden Tieres nicht unbedingt eine identische Region.

Nach unseren Beobachtungen beginnt sich der Ciliengürtel während der Schwärmerbildung auf der der Aussenwelt zugekehrten Körperfläche zu entwickeln (Abb. 2). Dies ermöglicht es dem Schwärmer, sich auch von den in die Vertiefung gelangten Parasiten leicht loszulösen und in das Freie zu gelangen. Es sind jedoch auch Beispiele zu finden, wo der Ciliengürtel (Abb. 2 b) nicht der

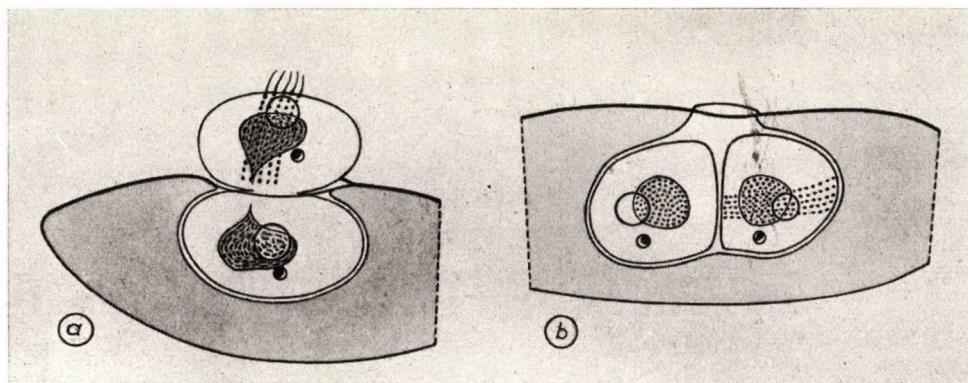


Abb. 2. *Podophrya parasitica* während der Schwärmerbildung. a — Der in die ektoplasmatische Vertiefung des *Parameci ms* gesunkene Parasit entwickelt auf der ins Freie gerichteten Seite einen Schwärmer. b — Die Teilungsachse des Parasiten fällt senkrecht auf die Richtung der Öffnung

Aussenwelt zu orientiert ist, d. h. genauer gesagt er neigt sich nicht parallel zu der seine Anhaftungsfläche und die Öffnung der Vertiefung des Wirtstieres verbindenden Achse, sondern bildet mit derselben einen schießen Winkel.

Der Schwärmer von *Podophrya parasitica* ist dem von *P. fixa* und *P. libera* sehr ähnlich. In der Form, in der Anordnung des Ciliengürtels und der Vakuole zeigen sich keine wesentlichen Unterschiede. Ein Stielbildner entwickelt sich jedoch auf dem Schwärmer von *P. parasitica* nicht. Der Schwärmer siedelt sich ohne Entwicklung des Stiels auf dem Wirtstier an.

Auf Grund der Beobachtung von vielen hundert Schwärfern kann festgestellt werden, dass die Symmetrie-Verhältnisse des Schwärmers stets identisch sind. Die Vakuole entwickelt sich auch hier, genau so wie bei *P. fixa* und *P. libera* im Ciliengürtel, in dem vorderen Drittel des Körpers. Die zwischen den beiden Schwärfern bestehende Ähnlichkeit ist so bezeichnend, dass — obwohl auf dem abgerundeten Tier die Feststellung der schwärmerzeitlichen Symmetieverhältnisse kaum oder überhaupt nicht mehr möglich ist — auf die Determination des Ciliengürtels dennoch gefolgt werden kann.

Bei der Teilung tritt die Vakuole des Schwärmers — über der des Muttertiers — in einer an die Vakuole von *Podophrya libera* erinnernden Lage in Erscheinung. Auch dieser Umstand beweist, dass die Stelle der schwärmerzeitlichen Cilienreihen auf dem entwickelten Tier bewahrt wird. Ebenso müssen wir auch die Beispiele erklären, wo der neue Schwärmer und mit ihm der Ciliengürtel, nicht der Öffnung der Vertiefung des Wirtstieres zu geneigt sind, sondern mit dieser einen schiefen (eventuell rechten) Winkel bilden. Sicherlich war auch der Ciliengürtel des auf dem Wirtstier angesiedelten Schwärmers ähnlich gelagert und der während der Schwärmerbildung auftretende Ciliengürtel passt sich nur den bei der Ansiedlung angenommenen Symmetrieverhältnissen, vor allem der Anordnung des schwärmerzeitlichen Ciliengürtels an.

Es war GUILCHER, der als erster *Podophrya parasitica* auf dem *Paramecium* feststellte. Er unterscheidet sie von der *P. parasitica* FAURÉ-FREMIET's, die als Parasit auf *Nassula* lebt. Aus der Zeichnung GUILCHER's geht hervor, dass die ihm bekannte Varietät während der Vermehrung in zwei ungefähr gleich grosse Teile zerfällt. Dasselbe konnte auch bei der von uns in Héviz gesammelten Varietät festgestellt werden. Nach der Ansicht von FAURÉ-FREMIET bildet die als Parasit auf *Nassula* lebende Art die Schwärmer mit einer ungleichen Teilung. So können — von den frei lebenden Podophryen angefangen bis zu den Parasiten — das allmähliche Kleinerwerden des Schwärmers und damit auch das Ungleicherwerden der Teilung verfolgt werden. Die extremen Beispiele bilden die als Endoparasiten lebenden Sphaerophryen, die sich mit einer sehr ungleichen Teilung vermehren. Bei diesen ist auch der Schwärmer anders. Er weist eine monaxone Symmetrie auf und ist mit einem, die Mitte des Körpers umgebenden Ciliengürtel versehen. Aus eigenen Beobachtungen ist uns die Schwärmerbildung nicht bekannt, aus den Beschreibungen hingegen kann nicht beurteilt werden, ob die determinierende Wirkung des schwärmerzeitlichen Ciliengürtels bei den Sphaerophryen zur Geltung kommt. Ebenso ist in dieser Hinsicht auch das Verhalten der Parapodophryen vollkommen unbekannt.

Wie allmählich und gewiss die Ausbildung der ungleichen Teilung aus der gleichen Teilung ist, genau so ungewiss ist — nach Ansicht von COLLIN — die Homologisierung der Zweiteilung der Suctorien und der Teilung der Ciliaten. Nach der Auffassung von COLLIN wird die Homologisierung durch zwei wesentliche Unterschiede verhindert. Erstens dadurch, dass die transversale Teilung der Ciliaten senkrecht auf die vordere—hintere Achse erfolgt, die der Suctorien hingegen senkrecht auf die dorsoventrale Achse. Der andere, die Homologisierung verhindernde Unterschied besteht darin, dass die aus der Teilung der Ciliaten entstehenden Individuen gleich orientiert sind, bei den Schwärmern der Suctorien hingegen die Achse senkrecht auf die des Muttertieres fällt. Die gründliche Untersuchung der Podophryen zeigt, dass bei dieser Gattung weder das eine, noch das andere Gegenargument begründet ist. Die Teilung verläuft im wesentlichen — wenn wir bei der Bezeichnung der Achse die Scopula als Grundlage

annehmen — senkrecht auf die vordere—hintere Achse. Auch die Orientation des Muttertiers und des Schwärmer stimmen überein, denn bei dem Muttertier entwickelt sich der Ciliengürtel — wenn sich das Muttertier zur Gänze in einen Schwärmer verwandelt — an derselben Stelle, wie bei dem Schwärmer und auch die Scopula ist ähnlich gelagert. Der Unterschied besteht nur darin, dass sich auf dem Muttertier der Ciliengürtel nicht gleichzeitig, sondern erst nach Loslösung des Schwärmers entwickelt.

Die Vermehrung der Podophryen entspricht in allen wesentlichen Zügen der Teilung, unterscheidet sich jedoch grundlegend von der Knospung, mit welcher sie COLLIN identifizieren will. Darauf wurde bereits in einer anderen Arbeit hingewiesen [14]. Während der Knospung wächst dem Muttertier eine kleine Erhöhung, die sich zum Schwärmer entwickelt. Bei der Teilung schnürt sich jedoch der neue Schwärmer in gleicher oder ungleicher Grösse von dem Muttertier ab.

Der Schwärmer von Podophryen ist sehr modifiziert. Er unterscheidet sich nicht nur von den übrigen Podophryiden, sondern im allgemeinen auch wesentlich von dem monaxonen Schwärmertypus. Wir erklären diesen Unterschied mit der sprungartigen Veränderung des monaxonen Schwärmertypus : mit der in der Ebene des Ciliengürtels vor sich gehenden Verflachung [14]. Darauf deuten die Lage der Scopula, der Ablauf der Ausbildung der Schwärmer, ferner der Umstand, dass die unmittelbaren Verwandten eine monaxone Schwärmerform aufweisen. Eben deshalb würde sich eine vergleichende Untersuchung, hauptsächlich der Entwicklung der Parapodophryen, als sehr lehrreich erweisen. Der Schwärmer der letzteren ist monaxoner Art. Die innere Knospung zeigt, dass auch die Entwicklung des monaxonen Schwärmertypus oftmals noch die determinierende Rolle des Ciliengürtels erkennen lässt.

#### *Die Determination bei der circumvaginativen inneren Knospung*

An Stelle der Beschreibung der circumvaginativen inneren Knospung sei hier nur auf die früheren Abhandlungen hingewiesen [9, 11].

Eine derartig einfache Verwirklichung der Determination wie bei der Zweiseitteilung, ist hier unmöglich. Die Entwicklung des Embryos beginnt mit einer geringfügigen Vertiefung der Oberfläche. Diese Vertiefung ist die Stelle, wo sich der Ciliengürtel organisiert. Sie tritt in einer für die Arten oder Varietäten genau so charakteristisch vorher bestimmbaren Region des Körpers in Erscheinung, wie die Organisation des Ciliengürtels der Podophryen. Die erwähnte Stelle entspricht oft der Spitze, ist jedoch manchmal — in der für die Varietäten bezeichnenden Weise — ein wenig seitlich gelagert und sehr oft daran zu erkennen, dass die einzige oder eine Vakuole des Muttertiers mit der beginnenden Vertiefung (Invagination) zusammen selbst auch in den perigemmalen Hohlraum sinkt.

Bei den Acinetiden ist verhältnismässig selten ein solches Beispiel zu finden, wo die etwaige determinierende Rolle des Ciliengürtels unmittelbar erkannt oder angenommen werden kann. Eine Varietät von *Acineta tuberosa* entspricht dieser Konsequenz. Die Zeichnungen der Abb. 3. beweisen, dass auf der Spitze des aus der Metamorphose des angesiedelten Schwärmers entstehenden Muttertieres die Bildung des Embryos an einer solchen Stelle beginnt, die in die Region des

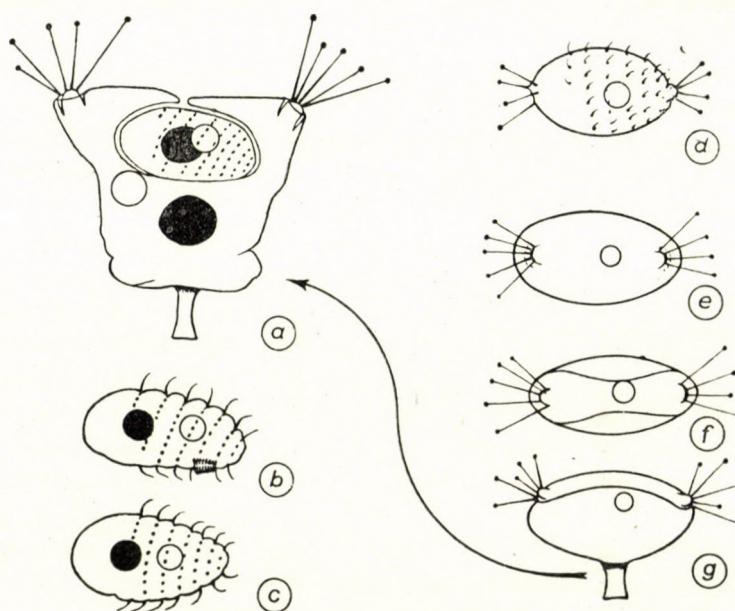


Abb. 3. Bildung und Metamorphose des Schwärmers von *Acineta tuberosa*. a, b, g — in Seitenansicht, die übrigen Zeichnungen von oben gesehen

schwärmerzeitlichen Ciliengürtels fällt. Der Ciliengürtel selbst ist jedoch auf einer weiten Fläche ausgebreitet und bedeckt den grösseren Teil der Körperoberfläche des Schwärmers, so dass von einer derartig ausdrücklichen, determinierenden Rolle, wie sie uns im Falle von *Podophrya* bekannt ist, hier nicht gesprochen werden kann.

Vor allem wurde im Zusammenhang mit der Untersuchung von Tokophryen bereits früher festgestellt [9, 11], dass der Ciliengürtel des umgebildeten Schwärmers seine relative Stelle ändern kann. Bei einzelnen Arten erhebt sich die Ciliengürtel-Region im Laufe der Metamorphose bis zur Mitte der Spitze. Bei diesen Arten ändert sich die Richtung der schwärmerzeitlichen Längsachse gleichfalls in bedeutendem Masse und bildet mit der ursprünglichen Richtung fast einen rechten Winkel [11, Abb. 16 und 17]. Diese Erfahrung gibt eine befriedigende Erklärung für die unverständlich erscheinende »Gesetzmässigkeit«, wonach sich die Längsachse des Muttertieres und des Embryos oftmals in einen

ungefähr rechten Winkel zueinander neigen (*T. quadripartita*, *T. lemnarum*, *T. cyclopum*). Bei anderen Arten kann diese Achsenveränderung nicht festgestellt werden (*T. infusionum*, *T. multifasciculata*), so dass die Metamorphosen — den Änderungen in der Orientierung der Achse entsprechend — in zwei Gruppen geteilt werden können: in solche, die ohne Richtungswechsel vor sich gehen und in solche, die mit einem Richtungswechsel verbunden sind.

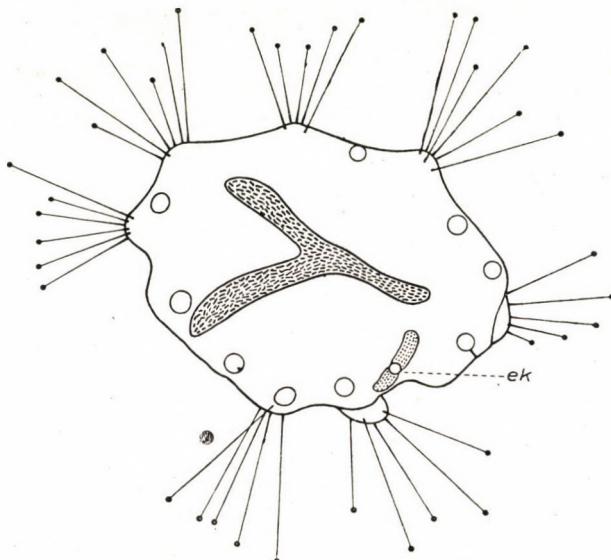


Abb. 4. Schwärmer entwickelnde *Trichophrya epistyliidis*. E k — Embryo-Anlage, mit entstehenden Ciliengürteln

Versilberte Präparate lassen erkennen, dass die Basalkörperchen der Ciliengürtel eine gewisse Zeit nach der Metamorphose noch in Reihen zu finden sind und der Richtungswechsel demzufolge beobachtet werden kann. Dieser Richtungswechsel erscheint infolge des bereits beschriebenen [9, 11] ungleichen Wachstums als natürlich. Der Ciliengürtel bewahrt jedoch seine Anordnung nicht bis zum Ende der Umwandlung, d. h. nicht bis zum Beginn der embryonalen Entwicklung, sondern verschwindet bis zu dem genannten Zeitpunkt in dem Masse, dass seine Stelle mit Sicherheit nicht mehr festgestellt werden kann. Obwohl die Basalkörperchen der Ciliengürtel auch bei den Podophryen nach der Metamorphose nicht zu finden sind, ist die Abhängigkeit dort dennoch bestimmt.

Zweifellos besteht zwischen dem Ciliengürtel des neuen Schwärmers und der Stelle des schwärmerzeitlichen Ciliengürtels des Muttertiers kein so inniger Zusammenhang, wie dies bei den Podophryen der Fall ist. Die mit Achsenveränderung verbundene Umwandlung weist jedoch auf einen Determinationszusammenhang [11, Abb. 18]. Auch bei einer Umwandlung ohne Richtungswechsel

der Achse kann diese Beziehung festgestellt werden. Als Beispiel sei *Tokophrya multifasciculata* erwähnt. Diese Infusorie verfügt über einige im Ciliengürtel befindliche und mehr in die unteren Reihen desselben eingebettete Vakuole. Nach der Umwandlung, wenn die Entwicklung der neuen Schwärmer beginnt, sinkt die einzige Vakuole in den perigemmalen Hohlraum (Abb. 5). Offenbar beginnt also der Ciliengürtel des neuen Schwärmers in der Region des alten Ciliengürtels seine Entwicklung. Die Ausschneidung der im Laufe der succedanen Knospung sich nacheinander entwickelnden Schwärmer lässt die pulsierende Vakuole immer tiefer und tiefer sinken.

Schwieriger ist es, eine Abhängigkeit zwischen der Stelle des alten und der des neuen Ciliengürtels bei jenen anderen Arten zu finden, die sich gleichfalls auf die Weise aus einem Schwärmer zu Suctoriens verwandeln, dass sich inzwischen die Richtung der Hauptachse nicht ändert. In solchen Fällen kann sich auch die Lage des Ciliengürtels nicht wesentlich ändern. Auf die Möglichkeit eines Zusammenhangs deuten das dorsale Cilienbüschel, das sich gesondert auf der hinteren Wand des Körpers befindet und ferner die Tatsache, dass bei diesen Typen die Embryobildung nicht symmetrisch auf der Spitze, sondern mehr oder weniger seitwärts, also in einer sich dem ursprünglichen Ciliengürtel nähernenden Lage beginnt.

Von den mit circumvaginativer innerer Knospung sich vermehrenden Arten wäre es vor allem sehr wichtig, die Parasiten eingehend zu untersuchen. Aus den *Endosphaera Engelmanni* betreffenden Angaben dürfen wir folgern, dass auch hier mit der Determination der Geburtsöffnung gerechnet werden kann. Nach den Feststellungen von LYNCH und NOBLE [17] verfügt die im Inneren des Wirtstieres als Parasit lebende *E. Engelmanni* — die weder zur Schwärmerzeit, noch im entwickelten Zustand Saugrörchen entwickelt —, über eine einzige Vakuole. Diese Vakuole pulsiert in der Nähe der Geburtsöffnung, doch zu Beginn der Embryobildung gelangt sie auf den Grund des sich vertiefenden perigemmalen Hohlraumes. Oben erwähnte Autoren deuten bereits darauf hin, dass die pulsierende Vakuole des Schwärmers in dem Ciliengürtel oder in dessen unmittelbarer Nähe gelagert ist. Diese Beobachtung können auch wir in bezug auf eine Varietät von *E. Engelmanni* bestätigen, eine Varietät, die als Parasit in *Tokophrya* lebt. Ein Vergleich der Lage der einzigen Vakuole bei dem Schwärmer und dem Muttertier gestattet die Folgerung, dass der Region des Ciliengürtels, genauer gesagt der der Vakuole, in der Entstehung der Geburtsöffnung eine determinierende Rolle zufällt. Ausser dieser Bestimmung ist es unbedingt erforderlich, dass sich die Geburtsöffnung nur gegen die mit dem Wirtstier sich berührende Fläche öffne, da der Schwärmer sonst nicht ins Freie gelangen könnte.

Es sei hier noch ein Beispiel erwähnt. Der Schwärmer von *Trichophrya epistylidis* ist dorsoventral verflacht, sein Ciliengürtel zeigt eine geringe Richtungsabweichung. Nach Ansiedelung und Umwandlung nimmt das Tier an Grösse bedeutend zu und breitet sich horizontal aus. Eine wesentliche Abwei-

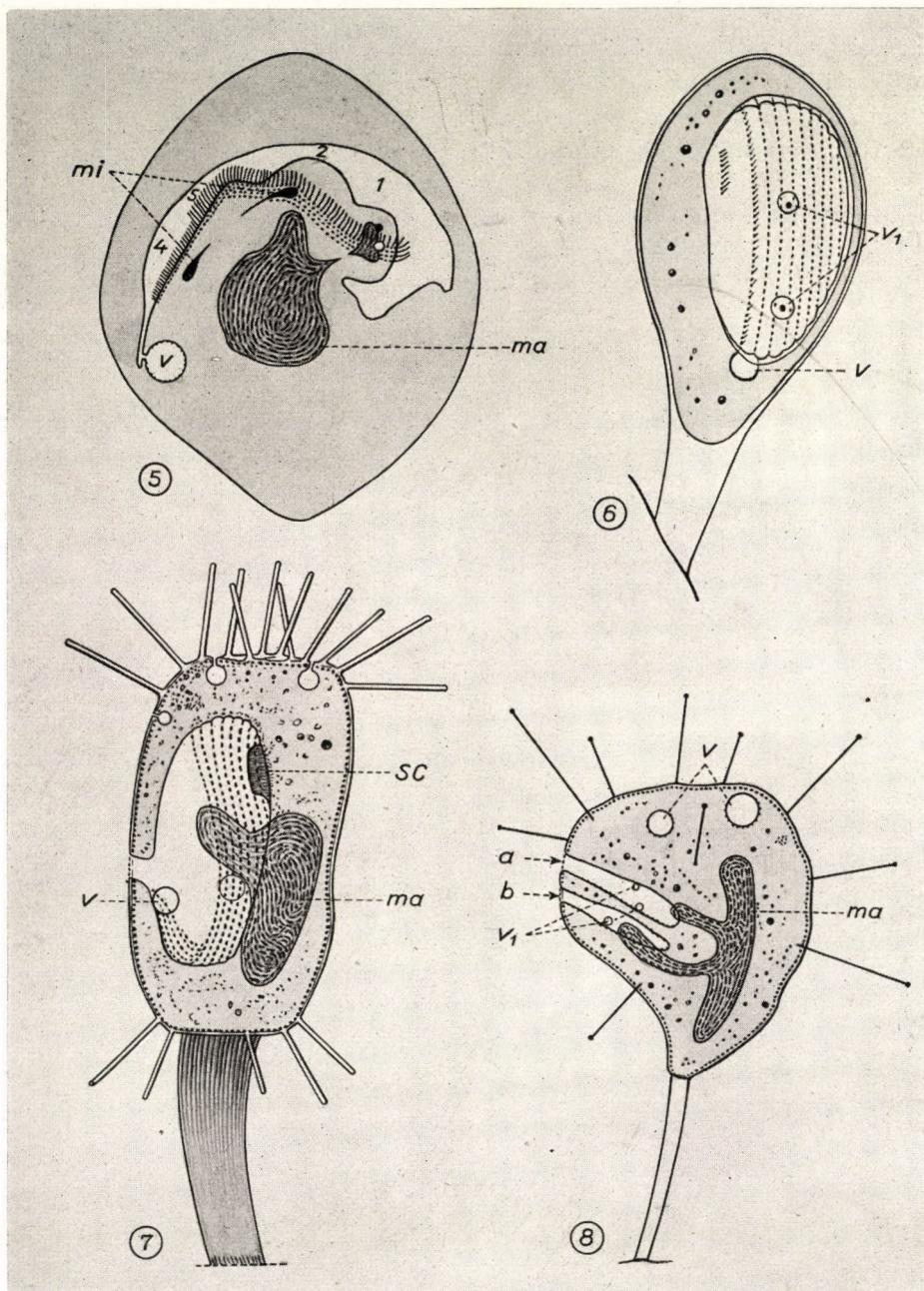


Abb. 5. Teil der succedanen Knospung von *Tokophrya multifasciculata*. Alle Ciliengürtel der sich entwickelnden Schwärmer entstehen in gegenseitiger Fortsetzung. 1, 2, 3, 4 — Die succedanen Schwärmer-Anlagen; ma — Makronukleus; mi — Mikronukleus. 6. Schwärmer entwickelnde *Urnula epistyliidis*. V — Vakuole des Muttertieres, *v<sub>1</sub>* — Vakuole des Schwärmers. 7. Schwärmer entwickelnde *Discophrya astaci*. 8. *Prodiscophrya collini*. Durch Doppelinvagination bilden sich zwei Mikrokonjuganten (a — b)

chung der Achse konnte nicht festgestellt werden. Auf dem Schwärmer sind die Vakuolen neben dem Ciliengürtel, im Kreis oder im Halbkreis angeordnet, zu finden. Am Anfang der Metamorphose, noch vor Ausbildung der Saugtentakel-Bündel, kann festgestellt werden, dass die Saugröhren in der Region des Ciliengürtels im Kreis auftreten. Auch bei dem entwickelten Tier vermehren sich in erster Reihe an dieser Stelle die Vakuolen und auch die Saugröhren-Bündel entwickeln sich am Rande. Auf dem oberen Teil des breit ausgedehnten Tieres würde sich, genau so wie bei vielen Arten von Tokophryen und Acinetiden, reichlich Platz für den Beginn der Embryobildung bieten. Dennoch wird die Erfahrung gemacht, dass die Geburtsöffnung in der Nähe des Randes, meistens zwischen den Bündeln der Saugtentakel entsteht (Abb. 4). Es kann also auch hier eine Abhängigkeit zwischen der Stelle der Geburtsöffnung und dem schwärmerzeitlichen Ciliengürtel festgestellt werden.

Die Beispiele beweisen, dass die Determination bei der circumvaginativen Schwärmerbildung, obwohl wir mit Recht auf die Abhängigkeit des Ciliengürtels bei Schwärmer und Muttertier schliessen können, nicht so ausdrücklich ist, wie bei den mit Zweiteilung sich vermehrenden Podophryen. Eine unbedingte Determination kann jedoch darin festgestellt werden, dass während einer succedanen, mehrfachen Knospung, z. B. bei *Endosphaera engelmanni* und besonders bei *Tokophrya multifasciculata*, der Ciliengürtel des ersten Schwärmers den Ciliengürtel der sich nachher entwickelnden Schwärmer bezeichnet. Das kann in Abb. 5 gut beobachtet werden. Vier, in verschiedenen Stadien der Entwicklung dargestellte Embryo-Anlagen beweisen, dass sich in unmittelbarer Fortsetzung des Ciliengürtels des bereits losgelösten Schwärmers der Gürtel des zweiten entwickelte, welch letzterer noch mit dem Muttertier zusammenhängt. Der Ciliengürtel des Muttertiers geht unmittelbar in den dritten über. Die Cilienreihen sind auch hier bereits ausgewachsen, doch der Makronukleus ist erst im Stadium der Abschnürung. Auf der vierten Embryo-Anlage sind die Cilien noch kaum wahrzunehmen. Der Mikronukleus zwischen der dritten und vierten Embryo-Anlage ist gerade in Teilung begriffen.

Schliesslich berufen wir uns unter den mit halbinnerer Knospung sich vermehrenden Arten auf die mit den Pseudogemmen verwandte, im Jahre 1938 unter dem Namen »*Pseudogemmides globosa*« verhandelte Art [11]. Die damals veröffentlichten Zeichnungen beweisen, dass bei den sich entwickelnden Schwärmern nicht nur die Längsachse mit der des Muttertiers übereinstimmt, sondern auch der Ciliengürtel entwickelt sich in der Richtung des schwärmerzeitlichen Ciliengürtels der Muttertieres.

Wir veröffentlichen eine Abbildung über die Entwicklung von *Urnula epistylidis* (Abb. 6). Die Abbildung zeigt jene Phase der Entwicklung, wo die Cilienreihen bereits vorhanden sind und die Formung des Schwärmers in der für die halb-innere (circumvaginative) Knospung charakteristischen Weise, mit der allmählichen Invagination des auf der Oberfläche entstandenen Ciliengürtels

schon begonnen hat. Obwohl in der Beschreibung von PENARD [19] nicht erwähnt, ist hier auch das dorsale Cilienbüschel gut zu sehen. Der dem Stiel zu gerichtete Ablauf der Cilien deutet auf die übereinstimmende Richtung des Ciliengürtels bei Schwärmer und Muttertier. Noch mehr darauf hin deutet der Umstand, dass die Vakuole des Muttertieres in den Weg der wachsenden Cilienreihen fällt und bei der Ausschneidung des Körpers vor dem Ende der Cilienreihen tiefer gelangt. Gleichzeitig kann auch beobachtet werden, dass die pulsierenden Vakuolen des sich entwickelnden Schwärmers im selben Streifen angeordnet sind und sich mit ihren Exkretionsporen zwischen die Cilienreihen einfügen. Die Vakuolen des Muttertieres und des Schwärmers deuten also auch für sich allein auf die Region des alten und des neuen Ciliengürtels.

### *Die Determination der Stelle der invaginativen Schwärmerbildung*

Von einer der beiden Familien, für die diese Art der Vermehrung ausschliesslich charakteristisch ist, von den Dendrocometiden genügt die Feststellung, dass die Geburtsöffnung seitlich gelagert ist, weshalb der Zusammenhang zwischen der Entstehungsstelle des Ciliengürtels bei dem Muttertier und bei dem Schwärmer mit Recht angenommen werden kann.

Schwieriger, umständlicher ist die Beurteilung bei den Discophryiden. Soviel ist sicher, dass die Region der Entstehung der Geburtsöffnung im voraus bezeichnet ist und zwar oftmals mit derselben Genauigkeit, wie bei den Acinetiden. Bei *Prodiscophrya collini* beginnt die Invagination stets ein wenig seitwärts von der Spitzenregion. Bei den hüllenlosen Discophryen beginnt die Invagination meistens seitlich, in halber Höhe des verflachten Körpers (Abb. 7), bei den bis zur Spitze mit einer Hülle bedeckten Arten hingegen am oberen Teil, doch gleichfalls nicht in der Mitte, sondern näher zu dem Bündel der Saugröhren [9, 11].

Einige unserer Erfahrungen weisen darauf hin, dass sich die Geburtsöffnung — nach der Metamorphose — an die ventrale bewimperte Region der Discophryiden-Schwärmer anschliesst. In der Anordnung der Vakuolen des Schwärmers und des entwickelten Tieres wurden die Regionen zwar öfters als übereinstimmend befunden, dazu jedoch, um diese Gebundenheit als eine unbedingte zu bezeichnen, sind noch zahlreiche Beobachtungen der Entwicklung nötig. Bei der Untersuchung der Schwärmerentwicklung von *Prodiscophrya endogama* konnte in mehreren Fällen festgestellt werden [12, Abb. 3], dass die Lage der drei miteinander noch zusammenhängenden Tiere dann auf die Übereinstimmung der Geburtsöffnung deutet, wenn sich der Schwärmer ohne Loslösung vom Muttertier umwandelt und — den Zusammenhang bewahrend — einen neuen Schwärmer, vielleicht einen Mikrokonjuganten, entwickelt hat. Das gegenseitige Verhältnis zwischen dem zweiten und dem dritten Tier lässt erkennen,

dass der dritte, aus dem zweiten entstandene Schwärmer, aus der ventralen bewimperten Oberfläche desselben, aus der Region des hinteren Körperendes hervorkam. Ebenso kann darauf gefolgert werden, dass der zweite Schwärmer aus dem ersten durch eine ähnlich gelagerte Geburtsöffnung ins Freie gelangte. Die Determination der Stelle wird dadurch erleichtert, dass der Schwärmer den Zusammenhang mit dem Muttertier, stets auf dem über der Ciliatur befindlichen, unbewimperten Gebiet am längsten bewahrt.

Da der Schwärmer der Discophryiden zu den bestbewimperten Typen gehört, ist es auch ohne gesonderte Determination sehr wahrscheinlich, dass die Stelle der Invagination in die bewimperte Region fällt. Immerhin bleibt es eine interessante Frage, ob die Geburtsöffnung mit irgendeiner gut bestimmbaren Region des Schwärmers identifiziert werden kann oder ob bei den verschiedenen Typen jeweils eine andere Körperregion des Schwärmers für diese Öffnung bestimmt ist. Die Schwärmer stimmen nämlich in ihrer Grundstruktur zwar überein, die Geburtsöffnung ist jedoch bei jedem einzelnen Typus (z. B. *Prodiscophrya*, *Discophrya astaci*, *D. linguifera*) wesentlich anders gelagert. Wenn wir bedenken, dass die Umwandlung oftmals mit einem sehr einseitigen Wachstum der Oberfläche vor sich geht [9, 11], ist eine Entwicklungsgeschichtliche Übereinstimmung der Invaginationsstelle wohl vorstellbar. Zu einer entgültigen Stellungnahme in dieser Frage stehen uns noch nicht genügende Untersuchungsergebnisse zur Verfügung.

Jene Suctorianen, die sich mit einer circumvaginativen inneren Knospung vermehren, können nacheinander (succedan) oder gleichzeitig (simultan) auch mehrere Schwärmer entwickeln [11]. Mit einer invaginativen inneren Knospung entwickeln sich jedoch niemals aus derselben Ausstülpung mehrere Schwärmer. Der Schwärmer beendigt seine Entwicklung damit, dass er sich aus dem Körper des Muttertieres ausstülppt. Derselbe entogemmale Hohlraum kann also nicht der Ausgangspunkt für die Entwicklung neuerer Schwärmer sein. Nebeneinander ist jedoch — natürlich mit gesonderter Invagination — auch die Entstehung mehrerer Schwärmer vorstellbar. Dies wurde bei einer vegetativen Schwärmerbildung noch nicht beobachtet, aber während der Entwicklung eines Mikrokonjuganten konnten wir nebeneinander gleichzeitig die Bildung von zwei Embryo-Schläuchen feststellen. Aus Abb. 8 geht hervor, dass der Grosskern des Muttertieres in solchen Fällen gleichzeitig den beiden Schläuchen zu einen Fortsatz sendet. Später schnüren sich beide Fortsätze als Kern der Mikrokonjuganten ab.

Natürlich können sich im Muttertier nacheinander mehrere Schwärmer entwickeln, doch nach Loslösung des ersten Schwärmers kann die Entwicklung des folgenden nicht an demselben Punkt beginnen, da die Stelle der ersten Invagination verschwindet. Dies ist die Ursache, weshalb in Fällen, wo sich der neu entstandene Schwärmer vom Muttertier nicht loslöst — wie dies im Zusammenhang mit der vegetativen Schwärmerbildung der Discophryiden auch von COLLIN beobachtet wurde — nebeneinander mehrere umgebildete Schwärmer zu

finden sind. Solche Beispiele kennten bei *Prodiscophrya endogama* im Zusammenhang mit der Bildung der Mikrokonjuganten und der Schwärmer häufig beobachtet werden [12].

Weder bei den sich gleichzeitig noch bei den sich nacheinander entwickelnden Schwärmern liegen die Invaginationsstellen fern voneinander, ein Umstand, der gleichfalls auf die örtliche Gebundenheit der Geburtsöffnung deutet.

### **Auswertung der die Determination der Schwärmerbildung betreffenden Untersuchungen**

#### *Die übereinstimmenden Merkmale in der Entwicklungs-Determination der Ciliaten und Podophryen*

Bei den Ciliaten entwickeln sich die neuen Organellen während der Teilung im Richtungsmeridian oder — mit diesem verglichen — in einer vorher bestimmbarer Linie und Region. Die Untersuchungen von GELEI, KLEIN, CHATTON, LWOFF usw. [5, 6, 7, 16] bestätigen, dass sich das Cytostoma, das Cytopylge, die Exkretionsporen der Vakuolen und die Sekretionsporen entlang vorher bestimmbarer Linien, entlang der Meridiane I. und II. Ordnung bilden. Das neue Cytostoma und das neue Cytopylge entstehen im Richtungsmeridian, in bezeichnender Entfernung von den alten Gebilden. Hingegen erscheint die neue Exkretionspore auf dem sich teilenden Tier weiter entfernt vom Richtungsmeridian. Die Nummer des erwähnten Meridians (Exkretionsmeridian nach GELEI) ist jeweils charakteristisch für die einzelnen Arten.

Bei Podophrya fixa wird der Ciliengürtel nur von einigen Reihen gebildet. Der grössere Teil der Körperoberfläche des Schwärmers ist unbewimpert. Dem aus einigen Reihen bestehenden Ciliengürtel fällt jedoch eine eben solche determinierende Rolle zu, wie dem Richtungsmeridian oder dem Exkretionsmeridian im Paramecium und bei anderen bewimperten Infusorien. Bei der reorganatorischen Schwärmerbildung der Podophryen (wenn sich das entwickelte Tier in seiner Gänze in einen Schwärmer verwandelt) und bei der ausserhalb der Teilung vor sich gehenden Reorganisation des Cytostomas der Ciliaten, kommt die determinierende Rolle ebenso zur Geltung, wie während der Teilung. Die neue Vakuole von *Podophrya* öffnet sich mit der Exkretionspore in den Ciliengürtel. Genau so entwickelt sich — in charakteristischer Entfernung vom vorigen Gebilde — auch der Stiel und zwar zwischen den Reihen, ungefähr im hinteren Drittel des Körpers des Schwärmers. Die Untersuchungen werden fortgesetzt, um festzustellen, ob in der genauen Anordnung ein für die Arten und Varietäten charakteristischer Unterschied nachweisbar ist.

Im Zusammenhang mit der Determination muss noch ein wichtiges Problem, die Polarität, erwähnt werden. CHATTON und LWOFF nahmen in bezug auf

die Cilienreihen der Ciliaten diese Polarität an, die von WEISZ experimentell bestätigt wurde. Der Richtungsmeridian von Stentor kann nach Ausschneidung verschiedener Teile seine das Cytostoma organisierende Fähigkeit in der ganzen Länge des Meridians zur Geltung bringen, nur bei der Funktion aktueller, hindernder Einflüsse manifestiert sich diese Fähigkeit systematisch am vorderen Ende des Richtungsmeridians.

Bei *Podophrya* erweist sich experimentell die Untersuchung von zwei Fragen als notwendig. Erstens muss festgestellt werden, ob die Organisierung der neuen Ciliatur auf irgendeine Weise auch ausserhalb der Region des alten Ciliengürtels ausgelöst werden kann. Zweitens muss die Frage gelöst werden, ob bei der Entstehung des neuen Ciliengürtels die Polarität zur Geltung kommt. Die Erörterung dieser Fragen ist auch deshalb von Wichtigkeit, weil bei den Ciliaten die Organisierung der Zellorganellen von praeformierten fibrillären Elementen gelenkt und durchgeführt wird, während bei den Suctoriern solche differenzierte Elemente nicht bekannt sind. Bei den Ciliaten sind einzelne Ciliarsysteme in dem Masse autonom, dass sie sich nach ihrer Entfernung (z. B. das Cytostoma des Paramecium, die Haftscheibe von *Licnophora*) aus den übrigen Teilen des Ciliarsystems nicht neubilden können.

Auf die erste der beiden von uns aufgeworfenen Fragen kann — auf Grund der noch anhaltenden Versuche — vorläufig keine befriedigende Antwort gegeben werden. Die andere Frage kann — mit Hilfe von zwei, mit Experimenten gleichwertigen Beobachtungen — einer Lösung zugeführt werden.

Der Schwärmer von *Podophrya parasitica* haftet während des Schwimmens meistens mit dem vorderen Ende an dem Wirtstier. Das vordere Ende entspricht der Organisations-Region, also der Ektoplasmafläche, wo die Formung des Ciliengürtels begann. Nach der Metamorphose bleibt das vordere Ende meistens unmittelbar oder ein wenig schräger auch weiterhin dem Wirtstier zugewendet. Die Bildung des neuen Ciliengürtels beginnt in den meisten Fällen auf der der Anhaftungsfläche gegenüber liegenden Seite, also auf einer von der früheren Organisations-Region entfernt liegenden Fläche. Noch charakteristischer ist vielleicht das Verhalten von *P. libera*, deren Schwärmer sich nach der Stielbildung abrundet. Das entwickelte Tier kann sich auch mehrmals nacheinander in einen Schwärmer verwandeln. Die Organisierung des Ciliengürtels beginnt stets auf dem dem Stiel gegenüber befindlichen Pol, weshalb daran gedacht werden könnte, dass die Organisations-Region auch nach einer mehrmaligen Metamorphose auf dasselbe Gebiet fällt. Die Beobachtung der einander folgenden Schwärmerbildungen lässt jedoch erkennen, dass das nicht der Fall ist. Bei jeder Umwandlung entsteht ein neuer Stielbildner, in einer solchen Entfernung von dem alten Gebilde, die ungefähr einem Drittel der Körperlänge des Schwärmers entspricht. Charakteristisch ist, dass der Scopula stets in derselben Richtung, auf der der Vakuole zu fallenden Seite erscheint und demzufolge — nach einer 5—6maligen Metamorphose — den Körper des Tieres im Meridian des Cili-

gürtels im Kreis vollständig umwandern kann. Ebenso wechselt auch die Exkretionsöffnung der sich regenerierenden Vakuole in derselben Richtung ihre Stelle.

Die Reorganisations-Schwärmerbildung von *P. libera* bestätigt einerseits die Polarität der Cilienreihen, da sich die neuen Organellen von den früheren stets in derselben Richtung verschieben, anderseits beweist sie, dass auch die Organisations-Region selbst auf ähnliche Weise ihre Stelle ändern kann! Man könnte zwar ein stärkeres einseitiges Ektoplasma-Wachstum annehmen, das die Organisations-Region bis zum Ende der Metamorphose auf den dem Stiel gegenüberliegenden Pol verschieben würde, doch waren wir nicht in der Lage, diese Annahme durch Beobachtungen zu bestätigen.

#### *Wodurch wird die Determination der Schwärmerbildungsstelle gelenkt?*

Nach den Untersuchungen von CHATTON, LWOFF, LWOFF und TELLIER [1] organisieren sich die Basalkörperchen der Cilien mit genetischer Kontinuität aus den ungeordneten kortikalen Körnchen der entwickelten *Podophrya*, also aus den Kinetosomen. Die Frage der genetischen Kontinuität verdient weiteres Studium. In der Untersuchung der Determination spielt jedoch auch jene von französischen Autoren aufgeworfene Frage eine wichtige Rolle, die zu ergründen bestrebt ist, was das Primum movens der Organisation sein kann, ob es die Kinetosomen sind oder das kortikale Gitter?

Das Problem ist auch seither ungelöst und unserer Ansicht nach fällt die entscheidende Rolle weder den Kinetosomen noch dem kortikalen Gitter zu. Bei versilberten Präparaten ist weder in der Anordnung der ersteren, noch in der Struktur des letzteren ein solch bezeichnender Unterschied zu finden, der eine Differenzierung von der Struktur der benachbarten Fläche ermöglichen würde. Noch viel weniger gelang es, innerhalb des die Ciliatur bestimmenden Gitters einen für die Organisations-Region bezeichnenden Unterschied festzustellen. Auch von CHATTON, LWOFF, LWOFF und TELLIER wird ein Unterschied nicht erwähnt. Eine derartige Struktur lässt auch die ständige Wanderung der Organisations-Region als zweifelhaft erscheinen. Bei der Suche nach den Motiven der Determination können uns zwei Tatsachen einen gewissen Anhaltspunkt bieten. Die eine Tatsache ist in dem determinierenden Charakter, der der Stelle des alten Ciliengürtels zufällt, die andere Tatsache in der Ortsgebundenheit der Organisations-Region an den dem Stiel gegenüber liegenden Pol zu sehen. Die determinierende Wirkung des alten Ciliengürtels kommt gleich zu Beginn der Organisierung auch darin zum Ausdruck, dass sich die Basalkornreihen — ihren beiden Enden entsprechend — orientiert entwickeln. Dies kann in Erman- gelung einer polaren mikroskopischen Struktur nur mit einer polaren sub-

mikroskopischen Struktur erklärt werden. Ein Vergleich der im Laufe der Metamorphose nachgewiesenen Wanderung der Organisations-Region und der determinierenden Stelle am entwickelten Tier lässt klar erkennen, dass die während der Metamorphose entstehende Polarität des entwickelten Tieres die Stelle des Organisationsbeginnes im alten Ciliengürtel bestimmt. Wie sich am Ei der Tiere höherer Ordnung im Laufe der Entwicklung die polare Gradienten ausbildet, so ordnet sich auf der kugelförmigen Podophrya während der Metamorphose der polare Unterschied, in dem offenbar auch hier eine Stoffwechsel-Gradient zu sehen ist, über deren Wesen uns jedoch erst weitere Untersuchungen nähere Auskunft geben können. Bei *Urnula* fällt die Organisations-Region — wahrscheinlich infolge des apikal gelagerten Saugröhrechens — auf die Seite.

Bei der Untersuchung der Determination der inneren Embryobildung ist die Organisations-Region (also die Stelle der Einstülpung) genau so entscheidend, wie es bei der äusseren Embryobildung der Fall ist. Der schwärmerzeitliche Ciliengürtel kann in seiner ganzen Länge keine solch determinierende Wirkung ausüben, wie bei den mit Zweiteilung sich vermehrenden Arten, da der neue Ciliengürtel nicht in der alten Region verläuft. Bei den mit Achsenveränderung sich umwandelnden Arten ist nämlich eine äusserst konsequente Übereinstimmung zu finden, die darauf hinweist, dass der schwärmerzeitliche Ciliengürtel auch in der sich einstülpenden Region seine Richtung bestimmende Struktur zur Geltung bringen kann. Dieser Zusammenhang ist jedoch — hauptsächlich bei der invaginativen Knospung — kein notwendig bedingter, weil der dort sich entwickelnde Embryoschlauch im Laufe des Wachstums auch mehrmals die Richtung ändern kann. Obwohl im entwickelten Schlauch die Scopula gewöhnlich dem Muttertier zu gewendet ist, sind auch dafür Beispiele vorhanden, dass die Scopula des Schwärmers in die entgegengesetzte Richtung blickt (Abb. 7).

In der Entwicklung oder in der Form stark modifizierte Arten können die determinierende Wirkung des Ciliengürtels zur Gänze verlieren. Manchmal ist der Zusammenhang auch bei einfachen Formen schon recht ungewiss, in Fällen jedoch, wo sich der Schwärmer durch innere Knospung auch auf einem entfernten Punkt des verzweigten Körpers entwickeln kann, wie z. B. bei *Dendrosoma*, ist dieser determinierende Zusammenhang überhaupt unvorstellbar. Ebenso kann auf Grund der Beschreibungen [3, 17] darauf gefolgert werden, dass die Schwärmer der sich simultan, mit mehrfacher Knospung vermehrenden *Ephe-loten* unabhängig von der Region des alten Ciliengürtels entstehen. Die Saugröhren entstehen nämlich oberhalb des Ciliengürtels, die neuen Schwärmer hingegen innerhalb des Kranzes der Saugröhrechsen. (Die Frage, ob das dorsale Ciliensbüschel fähig ist, sich bis zur Oberfläche des Schwärmerbildners zu erheben, kann ohne weitere Untersuchung nicht entschieden werden.) Die Stelle, wo sich die Schwärmer bilden, ist jedoch zweifellos auch hier im voraus bestimmt. Alle diese Umstände weisen darauf hin, dass der Zusammenhang zwischen der Stelle der Schwärmerbildung und dem alten Ciliengürtel sich in demselben

Masse lockert, in dem sich die Schwärmerbildung von der Zweiteilung unterscheidet. Wo der erwähnte Zusammenhang vorhanden ist, dort bestimmen die Richtung des alten Ciliengürtels und der im Laufe der Metamorphose entstehende Gradienten-Unterschied zusammen die Organisations-Region und die Richtung des Wachstums. Wo dieser Zusammenhang bereits fehlt, übt die Polarität des Muttertieres allein ihre determinierende Wirkung aus. Erst weitere Untersuchungen können uns zeigen, durch welche Wechselwirkung des Ekto- und Entoplasmas, durch welche Art der während der Metamorphose entstehenden Polarität und des damit zusammenhängenden Gradienten-Unterschiedes die Aktivierung der Organisationsregion bestimmt wird.

#### LITERATUR

1. CHATTON, E., LWOFF, A., LWOFF, M., TELLIER, L. (1929) L'Infraciliature et la continuité génétique des blépharoplastes chez l'Acinétien *Podophrya fixa* O. F. MÜLLER. *C. R. Soc. Biol.*, **100**, 1191—1196.
2. COLLIN, B. (1911) Étude monographique sur les Acinétiens. I. *Arch. Zool. Exp. Gen.*, **50**, 421—497.
3. COLLIN, B. (1912) Étude monographique sur les Acinétiens. II. *Arch. Zool. Exp. Gen.*, **51**, 1—457.
4. FAURÉ-FREMIET, E. (1945) *Podophrya parasitica* n. sp. *Bull. Biol.*, **79**, 85—97.
5. GELEI, J. (1934) Das Verhalten der ektoplasmatischen Elemente des *Parameciums* während der Teilung. *Zool. Anz.*, **107**, 161—177.
6. GELEI, J. (1936) Das erregungsleitende System der Ciliaten. *C. R. XII. Congr. Internat. Zool. 1935, Lisbonne*, 174—206.
7. GELEI, J. (1950) Die Morphogenese der Einzeller mit Rücksicht auf die morphogenetischen Prinzipien von SEWERTZOFF. *Acta Biol. Hung.*, **1**, 69—134.
8. GUILCHER, Y. (1951) Contribution à l'étude des Ciliés gemmipares. Chonotriches, Tentaculifères. *Ann. Biol.*, **26**, 465—478.
9. KORMOS, J. (1935) Adatok a Suctoriusok fejlődésének ismeretéhez. Beiträge zur Kenntnis der Entwicklung der Suctorien. *Mat. Term.-tud. Ért.*, **53**, 522—541. (Ungarisch.)
10. KORMOS, J. (1935) A *Prodiscophrya Collini* ivari kétlakúsága és konjugációja. Geschlechtsdimorphismus und Konjugation bei *Prodiscophrya Collini* Root. *Állatt. Közl.*, **32**, 162—168. (Ungarisch; deutsche Zusammenfassung.)
11. KORMOS, J. (1938) Fejlődéstani vizsgálatok a Szívókásokon. Entwicklungsgeschichtliche Untersuchungen an Suctorien. *Mat. Term.-tud. Közl.*, **38** (1), 1—94. (Nur ungarisch.)
12. KORMOS, J., KORMOS, K. (1956) Neue Untersuchungen über den Geschlechtsdimorphismus der Prodiscophryen. *Acta Biol. Hung.*, **7**, 109—125.
13. KORMOS, J., KORMOS, K. (1956) Unveröffentlichte Resultate.
14. KORMOS, J., KORMOS, K. (1957) Die Entwicklungsgeschichtlichen Grundlagen des Systems der Suctorien. *Acta Zool. Hung.*
15. LWOFF, A. (1950) Problems of morphogenesis in Ciliates. Wiley, New York.
16. LYNCH, J. E., NOBLE, A. E. (1931) Notes on the genus *Endosphaera* ENGELMANN and on its occasional host *Opisthonecta Henneguyi* FAURÉ-FREMIET. *Univ. Calif. Publ. Zool.*, **36**, 97—114.
17. NOBLE, A. E. (1929) Two new species of the protozoan genus *Ephelota* from Monterey Bay California. *Univ. Calif. Publ. Zool.*, **33**, 13—26.
18. PENARD, E. (1920) Études sur les Infusoires tentaculifères. *Mem. Soc. Phys. Hist. Nat. Genève*, **39**, 131—229.
19. SAND, R. (1899—1901) Étude monographique sur le groupe des Infusoires tentaculifères. *Ann. Soc. Belg. Microsc.*, **24—26**, 1—441.

## ДЕТЕРМИНАЦИЯ В ОБЛАСТИ РАЗВИТИЯ СОСУЩИХ ПРОСТЕЙШИХ

## I. Детерминация места организации зародыша

В статье излагается на примере различных способов развития связь между поясом ресничек в стадии бродяжек и местом образования новых бродяжек.

У *Podophrya libera* и *P. parasitica* пояс ресничек новой бродяжки, и в ней место вакуоли и скопулы со способностью, подобной способности определения ресничных меридианов у ресничных инфузорий обусловливается поясом ресничек.

Подобно меридианам, регулирующим организацию ресничных инфузорий, ресничный пояс бродяжки *P. fixa* и *P. libera* также поляризован, так как в ходе преобразований скопула и вакуоля перемещаются в том же направлении. После метаморфозы в ресничном поясе стадии бродяжки, место организации новой бродяжки определяется полярностью развивающегося животного. Ни кортикальная сетка, ни кинетосомы не могут быть непосредственными вызывающими факторами.

По мере организации развития уменьшается детерминирующее значение ресничного пояса стадии бродяжки, и наконец оно может совершенно прекращаться. В таких случаях появляющийся во время превращения полярный градиент, природа которого еще не выяснена, является исключительным определителем организационного пятна.

## DETERMINATION IN THE DEVELOPMENT OF SUCTORIA

## I. Determination of the site of embryonic organization

By comparing various modes of development, author studies the correlation between the site of ciliary zone and that of bud formation.

In *Podophrya libera* and *P. parasitica*, the site of the ciliary zone predetermines that of the new buds, together with the place of the vacuole and scopula, in the same manner as is done by the ciliary meridian of ciliates. Since both scopula and vacuole of the *Podophrya fixa* and *P. libera* are found to move in the same direction in the course of metamorphoses, the ciliary zone of this protozoon appears to be polarized in the same way as the meridians which determine the organization of Ciliata. After the metamorphosis, the site of organization of the new buds is determined by the polarity of the adult animal in the bud-ciliary zone. It cannot be determined directly either cortically or by means of the kinetosomes.

Subsequent specialization reduces or may even completely abolish the significance of the sporal ciliary zone as a determining factor. If such is the case, the essentially yet unknown polar gradient, that appears during metamorphosis, will alone determine the site of embryonic organization.



# DIE ONTOGENESE DER PROTOZOOEN

J. KORMOS und KATALIN KORMOS

INSTITUT FÜR SYSTEMATISCHE ZOOLOGIE DER UNIVERSITÄT, SZEGED (VORSTAND: G. KOLOZSVÁRY)

(Eingegangen am 9. Mai 1956)

## Zusammenfassung

Bei dem am meisten modifizierten, invaginativen Typus der Entwicklung der Suctorien bildet sich die kortikale Organisierung des Schwärmers aus einem so kleinen, undifferenzierten Ektoplasma-Spross, dass diese Entwicklung als echte Ontogenese gewertet werden kann.

Alle Entwicklungstypen der Suctorien stimmen im Anfangsstadium überein. Das heisst, bei allen Typen beginnt die Bildung des Schwärmers genau so, wie die Umwandlung des Tieres in seiner Gänze zu einem Schwärmer, also mit der Aktivierung einer kleinen Region des kortikalen Plasmas und setzt sich mit dem organisatorischen Wachstum der aktivierte Region fort.

Aus der Übereinstimmung der Anfangsphase geht der Zusammenhang der Entwicklungstypen klar hervor. Bei einer Zweiteilung und halbinneren Knospung setzt die aktivierte Region das organisatorische Wachstum auf der Oberfläche bis zur Abschnürung des Körpers des Schwärmers fort. Im Falle einer äusseren Knospung erhebt sich die aktivierte Region des Ektoplasmas und wächst nach aussen, während sie sich bei einer inneren Knospung vertieft und den Schwärmer auf circumvaginative oder invaginative Weise bildet.

Auch die entwicklungsgeschichtliche Homologie bestätigt, dass sich die Haupttypen in der Entwicklung der Schwärmer ohne jeden Übergang, sprunghaft, einer aus dem anderen bzw. aus der Zweiteilung bildeten.

Auch die Teilung der Ciliaten stimmt mit der der Suctorien darin überein, dass die kortikalen Reorganisationsprozesse (die Erneuerung der Zellorganellen) stets der Zweiteilung vorangehen.

Die invaginative Embryobildung stellt eine endozelluläre Kopie der Gastrulation dar und zwar sowohl in der Art und Weise der Entwicklung, als auch in dem ähnlichen gegenseitigen Verhältnis des Ekto- und Entoplasma zum Ekto- und Entoderma.

GELEI bezweifelt mit vollem Recht, dass die Ciliaten über eine echte Ontogenese verfügen [8], denn der überwiegende Teil des Körpers und der Organellen halbiert sich zwischen den beiden aus der Teilung stammenden Individuen. Auch bei den Suctorien ergaben sich ähnliche Zweifel, doch ist es hier richtiger, von der Ansicht COLLINS auszugehen. Nach Auffassung genannten Autors entsprechen die Existenz des larvalen Charakter aufweisenden Schwärmers und seine Umwandlung in ein entwickeltes Tier der Tatsache der Ontogenese. Wenn wir jedoch die Entwicklungstypen der Schwärmer eingehender untersuchen, stellt sich heraus, dass der Schwärmerzustand für sich allein noch keinen von der Teilung der Ciliaten abweichenden wesentlichen Unterschied verursacht und die Ontogenese bei den einzelnen Entwicklungstypen jeweils anders in Erscheinung tritt und jeweils auch anders gewertet werden muss.

Die Entwicklungstypen der Suctorien wurden von uns bereits in früheren Abhandlungen eingehend besprochen [11, 12, 13, 17]. Die sich auf alle Einzel-

heiten erstreckende Untersuchung bestätigt, dass die mit gewissen Übergängen oder sprunghaft sich einander anschliessenden Typen solche charakteristische Merkmale aufweisen, die in der Entwicklung der Protozoen nirgends zu beobachten sind. Zur Klärung der Frage der Ontogenese bietet sich in keiner einzigen anderen Gruppe, nicht einmal bei den Chonotrichen, eine so günstige Gelegenheit, wie in diesem Falle. Die extremsten Exemplare der Suctorianen unterscheiden sich nämlich genau in dem Masse von der Zweiteilung, wie sich die Teilung der Würmer von der vom Ei ausgehenden Entwicklung der Würmer unterscheidet.

Trotz der eingehenden Untersuchungen [13] gibt es gegenwärtig noch keine Deutung für die Ontogenese der Suctorianen. Es fehlt uns ebenso die entsprechende Erklärung für die Ausbildung und den Zusammenhang der Typen, wie uns auch keine Vergleichsmöglichkeit mit der frühen embryonalen Entwicklung der Metazoen zur Verfügung steht. Vorliegende Arbeit der Verfasser bezieht gerade diesem Mangel abzuholen.

Die Erörterung der aufgeworfenen Probleme fordert natürlich die Kenntnis der in den früheren Abhandlungen mitgeteilten Ausführungen. Bevor wir die Lösung unserer eigentlichen Aufgabe — die Deutung der Ontogenese der Suctorianen — in Angriff nehmen, wollen wir ganz kurz einige solche Merkmale der Entwicklungstypen besprechen, deren Auffrischung, teilweise Ergänzung, uns unumgänglich notwendig erscheint.

#### Untersuchungsmaterial und Methodik

Die Untersuchungen wurden an denselben Suctorianen, mit denselben Methoden durchgeführt, von denen in unseren früheren Abhandlungen bereits die Rede war [18].

#### Die Zweiteilung und die Anfangsphase der halbinneren Schwärmerbildung

Die Schwärmerbildung beginnt bei beiden Entwicklungstypen in voller Übereinstimmung. In irgendeiner Region auf der Körperoberfläche des Tieres beginnt die Organisierung der Basalkörpern der Cilien. Diese Region entspricht dem Organisierungsgebiet des kortikalen Plasmas. Bei *Urnula epistylidis* (Abb. 1) treten diese sich gruppierenden und schnell vermehrenden Körnchen — und zwar noch ohne Cilien — zuerst in der mittleren Höhe des Körpers auf. Diese Körnchen sind gleich bei Beginn ihrer Ausbildung ungefähr parallel angeordnet und so orientiert, dass das eine Ende stets dem Stiel zu verläuft. Nachdem eine gewisse Entfernung erreicht ist, beginnt die Ausschneidung des Körpers des Schwärmers und der Ciliengürtel wächst nunmehr in dem rings um das Muttertier und dem Schwärmer sich vertiefenden Hohlraum solange weiter, bis sich der neue Schwärmer — der halbcircumvaginativen Schwärmerbildung entsprechend — ausgebildet hat.

Vom Standpunkte der weiteren Erwägung ist es wesentlich, dass sich der Ciliengürtel des neuen Schwärmers stets in einer Ektoplasma-Region zu ent-

wickeln beginnt und von dort aus in zwei Richtungen weiterwächst. Der Anfang der Entwicklung stimmt also mit der Anfangsphase der Zweiseitteilung der Podophryen überein. In dem Falle von *Podophrya fixa*, *P. libera* und *P. parasitica* beginnt die Organisierung des Ciliengürtels nicht auf der Seite, sondern auf der Spitze des Tieres [1, 10, 11, 13, 18] und verläuft von dort aus zu beiden Seiten in der Richtung des Stiels. Genau so wie für die halbinnere Schwärmerbildung

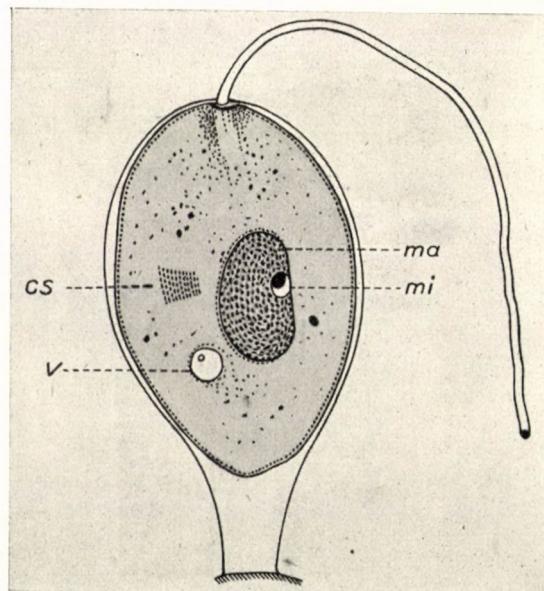


Abb. 1. Die erste Phase der Schwärmerbildung bei *Urnula epistyliidis*. Auf der Seite des Körpers erschienen in der sich organisierenden Ektoplasma-Region die Basalkörper von den Anlagen der Ciliengürtels

von *Urnula*, ist auch für die Zweiseitteilung von Podophryen der Umstand charakteristisch, dass die Ausschneidung des Körpers des Schwärmers nur dann beginnt, wenn die Organisierung des Ciliengürtels im wesentlichen bereits beendet ist.

#### Die Anfangsphase der inneren Schwärmerbildung

Von der circumvaginativen Schwärmerbildung ist bekannt, dass sie mit der Invagination einer kleinen Ektoplasma-Region beginnt [13]. Diese Region ist das Organisationsgebiet, wo sich die basalen Körnerreihen bilden. Abb. 2 zeigt, dass das Wachstum der Ciliengürtels gleichmäßig in beiden Richtungen vor sich geht und genau so wie bei den Podophryen beginnt auch hier die Formung des Embryos nicht vor der Ausbildung des Ciliengürtels. Die den Schwär-

mer ausschneidende Vertiefung ist nämlich nur so breit wie der Ciliengürtel selbst, während sie entlang der Reihen bereits tief in den Körper des Muttertieres eindringt. Nur später beginnt die Invagination auch in der Richtung der auf den Ciliengürtel senkrechten Fläche.

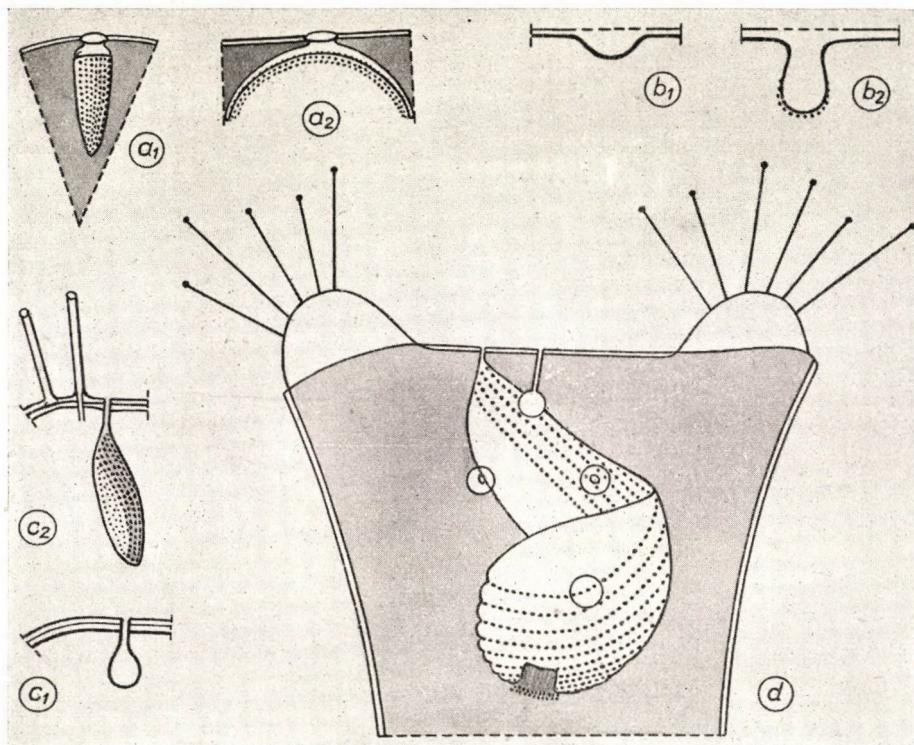


Abb. 2.  $a_1 - a_2$  — Anfangsphase in der Embryobildung bei *Trichophrya epistylidis*.  $a_1$  — in senkrechter Richtung auf den Ciliengürtel.  $a_2$  — in der Ebene des Ciliengürtels. Der Ektoplasmaschlauch wächst nur noch entlang des Ciliengürtels.  $b_1 - b_2$ : Invagination bei *Prodiscophrya collini*,  $1 - 2$ : Anlage des Embryoschlauchs bei *Discophrya linquifera*.  $d$  — Ausstülpbereiter gebogener Embryoschlauch bei *D. linquifera*

Auch bei der invasiven Schwärmerbildung besteht der erste Schritt darin, dass sich die Organisationsregion vertieft (Abb. 2). Diese Vertiefung entspricht bei *Prodiscophrya collini* einer ziemlich breiten Invagination, während sie bei anderen Discophryiden kaum wahrnehmbar ist. Bei *Discophrya linquifera* z. B. ist die Anlage des Embryoschlauchs so schmal, wie der Exkretionskanal selbst (Abb. 2c). Ganz am Anfang der Entwicklung ist deshalb auch die Verwechslung mit einer Pulsationsvakuole leicht möglich. Bei *D. lichtensteinii* ist die Embryoschlauch-Anlage mit dem Muttertier oftmals nur durch einen massiven Ektoplasmafaden verbunden. Eben deshalb stösst die Beobachtung der ersten

Entwicklungsphase auf Schwierigkeiten. Die Bildung des Ciliengürtels beginnt sehr früh. In der Richtung der Reihen verlängert sich der schmale Embryoschlauch in bedeutendem Masse (Abb. 2c). Bei einzelnen Arten ist die Anlage zu Beginn ganz vakuolenartig [13] und verschmälert sich nur im Laufe der Bildung der Ciliatur. Dennoch kann festgestellt werden, dass das Wachstum entlang des Ciliengürtels schneller vor sich geht, als in der auf den Ciliengürtel senkrechten Richtung. Vermutlich ist der Wachstum-Unterschied in den beiden Richtungen deshalb nicht auffallend, weil auch die Schwärmer selbst entlang des Ciliengürtels einen verlängerten Körperbau aufweisen.

### Die entwicklungsmechanische Verwandtschaft der Schwärmerbildungstypen

Die Schwärmerbildungstypen der Suctorien wurden bereits mehrfach charakterisiert [11, 13, 17, 18]. Es wurde darauf hingewiesen, dass wir die äussere Knospung — im Gegensatz zur Auffassung von COLLIN — unbedingt von der Zweiteilung der Podophryen unterscheiden müssen [17, 18]. Bereits früher wurden der Typus der halbinneren Knospung und die beiden entgegengesetzten Arten der inneren Knospung von uns analysiert und streng voneinander getrennt [11, 13].

Die Typen der Entwicklung können scharf voneinander getrennt werden und sind scheinbar sowohl phylogenetisch als auch entwicklungsmechanisch ganz verschieden. Vorangehend wurden jedoch die Anfangsphasen der Zweiteilung, der halbinneren Knospung und die beiden Typen der inneren Schwärmerbildung gerade deshalb miteinander verglichen, um die Verwandtschaft der sehr verschiedenen Entwicklungstypen und ihre entwicklungsmechanische Erklärung zu suchen.

Da wir nun sehen, dass bei den am meisten veränderten Entwicklungstypen der Suctorien ein ganz kleiner Ektoplasmaspross die Entwicklungsbasis der Organisierung bildet, können wir die Frage aufwerfen, ob die eigenartige Embryogenese, die vollständige *de novo* Bildung der Organellen des Nachkommens, tatsächlich in dem Masse eine neue Fähigkeit ist, wie es im ersten Augenblick den Anschein hat. Auf Grund der schematischen Darstellungen in Abb. 3 kann angenommen werden, dass es sich um eine neue Fähigkeit handelt.

Bei einer Zweiteilung halbiert sich das alte Ektoplasma (Abb. 3a, 1), während es bei einer halbinneren Knospung in geringerem Verhältnis auf den Schwärmer gelangt (Abb. 1a). Bei einer inneren und äusseren Knospung organisiert sich die kortikale Schicht aus einem neuen Spross, der Unterschied ist also ein äusserst prägnanter (Abb. 3a, 2, 4). Trotzdem konnte festgestellt werden, dass der Vorläufer der inneren Knospung bereits in der Zweiteilung vorhanden ist. Bei Podophryen beginnt die Teilung damit, dass sich auf der Spitze, in einer kleinen Region das Ektoplasma erneuert. Diese Erneuerung hängt sicherlich

mit der Organisierung der Infraciliatur zusammen. Die Tatsache der Erneuerung wird auch durch frühere Beobachtungen bestätigt. Wenn sich *Podophrya* in ihrer Gänze in einen Schwärmer verwandelt, so wandern vor den von der Spitze dem Stiel zu wachsenden Cilienreihen auch die Poren der Pulsationsvakuole selbst dem Stiel zu [13, Abb. 2]. Als einzige annehmbare Erklärung dafür kann nur

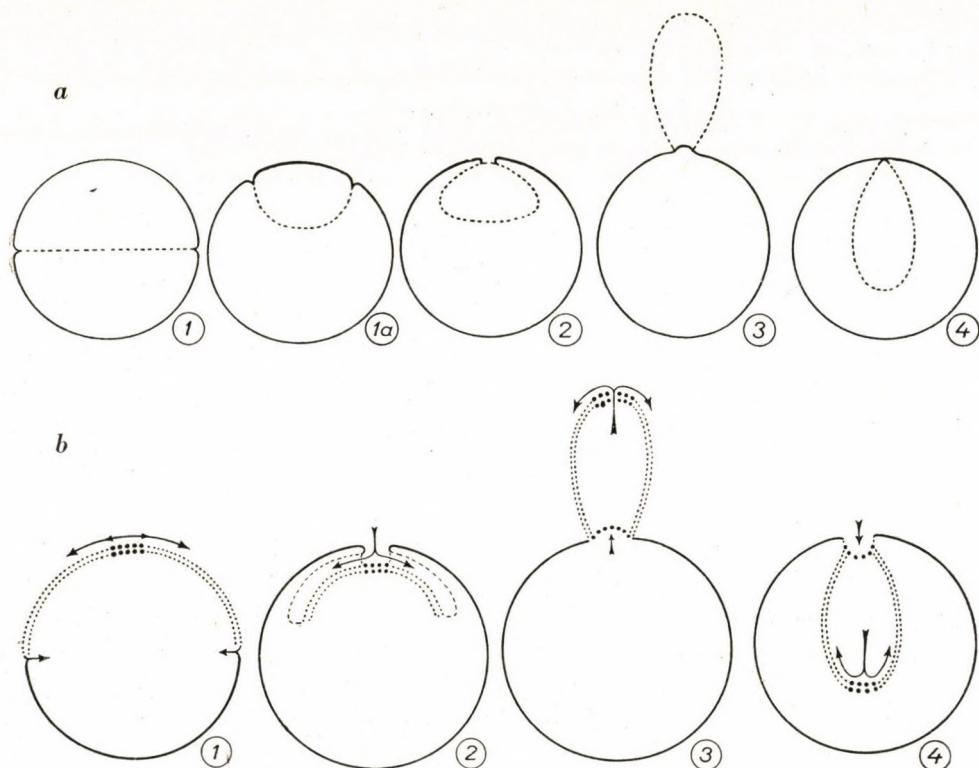


Abb. 3. a — Die Schemen der Entwicklungstypen zeigen, wie gross der Teil ist, den der Embryo aus dem Ektoplasma des Muttertieres erhält. Die zusammenhängende Linie bezeichnet das alte Ektoplasma, die gestrichelte Linie das während der Schwärmerbildung entstehende neue Ektoplasma. b — Entwicklungsmechanischer Zusammenhang zwischen den Typen der Schwärmerbildung. Die grossen Punkte bezeichnen die aktivierte Ektoplasma-Region, die doppelte Punktreihe deutet auf den Ciliengürtel, während der Pfeil auf die Richtung des Wachstums weist. 1 — Teilung, 2 — circumvaginative innere Knospung, 3 — äussere Knospung, 4 — in-vaginative innere Knospung

die im Ciliengürtel von der Spitze bis zum Stiel vor sich gehende Reorganisierung des Ektoplasmas in Frage kommen. Die sich in der Richtung des wachsenden Ciliengürtels öffnende Vakuole wandert auch bei *Urnula*, zusammen mit den Poren, vor dem Ende der Reihen weiter nach unten und gelangt schliesslich in die den Embryo ausschneidende Vertiefung. Auch hier ist die Reorganisation offensichtlich. Es ist noch nicht bekannt, ob auf der cilienlosen Oberfläche eine solche Reorganisation vor sich geht.

Die Podophryen vermehren sich zwar durch Zweiteilung, dennoch ist das erste Zeichen der Teilung — entwicklungsmechanisch betrachtet — identisch mit dem ersten Schritt von jedem Typus der inneren oder äusseren Knospung! In beiden Fällen beginnt nämlich die Embryoentwicklung damit, dass sich das Ektoplasma auf einer kleinen Fläche aktiviert, sich zu organisieren und gleichzeitig zu wachsen beginnt. Während das Wachstum bei der inneren und äusseren Knospung mit dem Auge wahrnehmbar ist, da der Ektoplasma-Spross nach innen oder nach aussen zu einer neuen Knospe anwächst, kann im Falle der Zweiteilung aus der Bildung der neuen Organellen, aus dem Verschwinden der alten Vakuole und aus der Verschiebung der Exkretionsöffnungen mit Sicherheit auf dieses Wachstum gefolgt werden. Auf diese Weise werden die Zweiteilung der Suctorien und die verschiedenen Typen der Knospung entwicklungsmechanisch in der Abb. 3 b schematisch veranschaulicht. Der Unterschied zwischen den Typen ist folgender :

Während der Zweiteilung geht das Wachstum des Ciliengürtels aus der aktivierte Region auf der kortikalen Fläche, also eigentlich im Wege der Organisation derselben vor sich (Abb. 3 b, 1). Im Falle einer äusseren Knospung erhöht sich allmählich die aktivierte Region und mit ihr zusammen wächst der Ciliengürtel (Abb. 3 b, 3). Im Falle einer inneren Knospung sinkt die aktivierte Region nach innen. Nach dem Einsinken verläuft das Wachstum des Ciliengürtels des Schlauches entweder divergierend (circumvaginative Schwärmerbildung ; Abb. 3 b, 2) oder es verläuft im Gegensatz zur äusseren Knospung so, dass auch der Ciliengürtel entlang des Schlauches wächst (invaginative Schwärmerbildung ; Abb. 3 b, 4). Aus den Skizzen der Abbildung geht hervor, dass die eingesunkene Varietät der Zweiteilung die circumvaginative Schwärmerbildung darstellt (1—2), während die eingesunkene Varietät der äusseren Knospung (also des Gegensatzes) der invaginativen Schwärmerbildung entspricht (3—4). Die beiden ersten Typen werden durch einen dazwischen liegenden Typus, durch eine halbinnere Knospung, miteinander verbunden, während uns zwischen dem dritten und vierten Typus kein Übergang bekannt ist. Ebenso besteht auch kein Übergang zwischen dem zweiten und vierten Entwicklungstypus. Vom phylogenetischen Standpunkte wäre es auch zwecklos einen Übergangstypus zu suchen. Das Hervortreten und das Einsinken der aktivierte Region, sowie die Wachstumsrichtung nach der Invagination beweisen, dass die Veränderung entwicklungsmechanisch in einem Schritt gut gedeutet werden kann. Da eine dazwischen liegende Entwicklungsstufe nicht theoretisch gefunden werden kann, besteht auch phylogenetisch keine Veranlassung eine solche zu suchen. Die Typen konnten — entsprechend den Veränderungen in der Wachstumsrichtung in der aktivierte Region des Ektoplasmas — nur sprunghaft, eine aus der anderen entstehen.

**Die invaginative Schwärmerbildung als auffallendes Beispiel für die Ontogenese der Protozoen. Das Entwicklungsproblem von *Cyathodinium***

Von einer echten Ontogenese kann nur dann die Rede sein, wenn die als Grundlage der Entwicklung dienende Anlage aus dem Organismus des Muttertieres gar nichts in fertigem Zustand erhält und der Nachkomme sich aus einer undifferenzierten Anlage entwickeln muss. Im Falle einer solchen Deutung unterscheidet sich die Vermehrung der Podophryen trotz des Schwärmerzustandes nur in geringem Masse von der Teilung der Ciliaten. Bei einem Vergleich der einzelnen Typen der Schwärmerbildung stellt sich heraus, dass der Unterschied zwischen der als Grundlage dienenden Anlage und dem Schwärmer (mehr noch

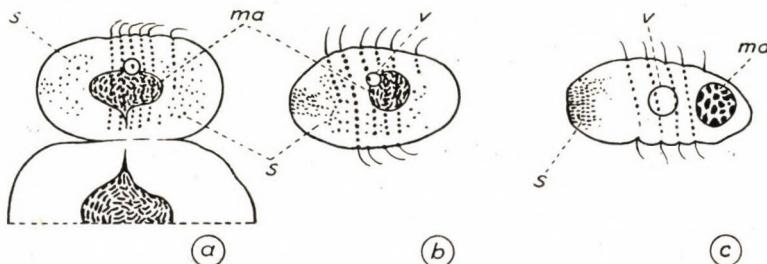


Abb. 4. Die Wanderung der stielbildenden scopularen Körnchen in dem sich entwickelnden Schwärmer bei *Tokophrya multifasciculata*. *s* — scopulare Körnchen, *ma* — Makronukleus, *V* — Vakuole

zwischen der Anlage und dem entwickelten Tier) um so gründlicher ist, je kleiner die Anlage ist, aus der sich der Schwärmer bildet. Die Abb. 3 zeigt schematisch, in welchem Masse das alte Ektoplasma an der Bildung des Embryos beteiligt ist. Bei den fünf Typen der Entwicklung kann beobachtet werden, dass die äussere Knospung kaum, die beiden inneren hingegen nur in sehr geringem Masse mit alten ektoplasmatischen Teilen zur Embryobildung beitragen. Am auffallendsten ist dennoch das Beispiel der invaginativen Schwärmerbildung. Die Ektoplasma-Anlage ist klein, unterscheidet sich kaum von der Pulsationsvakuole (Abb. 2 a) und steht nur im Wege einer ganz schmalen Spalte mit der Aussenwelt in Verbindung. Diese Spalte ist nicht breiter als der Exkretionskanal der pulsierenden Vakuolen. Beim Erscheinen der Embryo-Anlage kann diese Spalte nicht breiter sein als der Exkretionskanal, doch bot sich uns bisher noch keine Möglichkeit, die erwähnte Spalte im ersten Anfange der Entwicklung zu beobachten.

Wir heben die Kleinheit und die Undifferenziertheit der Anlage besonders hervor, vor allem im Vergleich zu dem zur Ausstülpung fertigen Schwärmer, auf dem die Ciliatur, der Stielbildner und die Vakuole mit der für die Schwärmer bezeichnenden Organisation fertig vorhanden sind. Über die dazwischen liegende

Phase der Entwicklung kann gegenwärtig nichts Neues gesagt werden, doch sei hier auf eine frühere Publikation hingewiesen [13], wo der ganze komplizierte Entwicklungsprozess eingehend besprochen wird.

Es ist nicht zu bezweifeln, dass hier — in Bezug auf die Protozoen — eine genau so hochgradige Ontogenese vor sich geht wie bei den Metazoen. Aus einem mikrongrossen, undifferenzierten Ektoplasma-Spross entwickelt sich ein reich differenzierter Schwärmer, dessen Körperoberfläche mehr als hundertmal grösser als die der Anlage ist. Die früheste embryonale Entwicklung des Metazoen-Eies geht ohne wesentliche Grössenveränderung vor sich, was bei den Suctorien unmöglich ist, da die winzig kleine Anlage ohne wesentliches Wachstum die zur Entwicklung ausreichende Substanz nicht liefern könnte.

Obwohl bei der Charakterisierung der Ontogenese die ektoplasmatische Organisation — da sie die fortschreitende Entwicklung in erster Reihe demonstriert — hervorgehoben wird, ist die vollständige Ausbildung des Embryos natürlich das Ergebnis einer Zusammenarbeit von Kern, Entoplasma und Ektoplasma. Dies wird auch durch die Entwicklung des Stielbildners bewiesen, eine Entwicklung, die wir mit Hilfe eines circumvaginativen Entwicklungsbeispiels veranschaulichen. Aus Abb. 4 geht hervor, dass sich der Stielbildner nach der Differenzierung des ektoplasmatischen Teils nur dann in eine vollwertiges Organelle verwandelt, wenn die im Entoplasma entstehenden und anfänglich rings um den Kern zerstreuten Körnchen zur stielbildenden Scopula wandern und sich dort in Reihen anordnen. Auch bei der Ausbildung der Saugrörchen erfüllen Ekt- und Entoplasma eine gewisse Aufgabe [14]. Über die Rolle des Kerns ist uns noch nichts Genaues bekannt. Es wird immer die Erfahrung gemacht, dass der Anfang der Embryoentwicklung den Änderungen des Kerns vorangeht. Dies beweist auch die Abb. 1, wo die Reihen der Basalkörperchen bereits vorhanden sind, aber an dem Zellkern selbst eine bestimmte Veränderung noch nicht zu sehen ist. Dennoch kann auf Grund der späteren, konsequenteren Strukturveränderungen daran gedacht werden, dass dem Kern in der Organisierung des Embryos eine aktive Rolle zufällt. In dem Kern [13] gehen nämlich die die Teilung vorbereitenden Strukturveränderungen (die reihenweise Anordnung der Chromatinkörnchen, die wechselnde wellenartige Verschiebung der Reihen) auch dann vor sich, wenn die Zellteilung und die Kernteilung ausbleiben und sich das Tier — unter Zurücklassung der alten Pellicula und der pellikulären Gebilde — in seiner Gänze in einen Schwärmer verwandelt (reorganisatorische Schwärmerbildung).

Hier müssen zwei Arten von Infusorien erwähnt werden, die sich — laut Angaben der Fachliteratur — auf sehr eigenartige Weise entwickeln. Die eine ist die im Meer lebende, *Tachyblaston ephelotensis* genannte Infusor, die andere ist *Cyathodinium piriforme*. Nach GRELL [9] entstehen die bewimperten Schwärmer durch eine äussere Knospung, und dennoch beginnt ihre Entwicklung so, dass sich im Entoplasma ein vakuolenartiger Hohlraum bildet, an dessen Wand

Cilien wachsen. Diese bewimperte Vakuole gelangt später auf einen seitlichen Wulst der Mutterzelle, wo sie sich öffnet und die Ciliatur des Schwärmers bildet.

Bei der zu den Trichostomen gezählten *Cyathodinium*-Art berichtet LUCAS ausführlicher [20] von einer ähnlichen Entwicklung. Auch dieser Verfasser ist der Ansicht, dass die bewimperte Vakuole *de novo*, vom Ektoplasma unabhängig, im Entoplasma entsteht (endocellular ciliated cyst). Diese bewimperte Vakuole gelangt zum Ektoplasma, öffnet sich dort, stülpt sich allmählich aus und bildet die Ciliatur des Tieres. Die alte Ciliatur verschwindet vollständig, bevor sich die neue Ciliatur noch ausgebildet hätte. Diese Erneuerung der Ciliatur kann sowohl mit als auch ohne Zellteilung stattfinden.

Obwohl es sich bei diesen beiden Tieren nur um die endozelluläre Entwicklung der Ciliatur und nicht um die des ganzen Tieres handelt, ist die Ähnlichkeit mit der invaginativen Schwärmerbildung der Suctorien dennoch nicht zu bezweifeln. Ähnlich ist nicht nur die Art und Weise, wie die Ciliatur auf die Oberfläche gelangt, sondern auch der Umstand, dass sich die Ciliatur auch bei *Cyathodinium*, genau so wie bei den Suctorien, sowohl mit einer Zellteilung verbunden, als auch ohne eine solche erneuern kann.

Die Beschreibung dieses wesentlichsten Teiles der Entwicklung ist jedoch noch ungewiss. Gerade diesbezüglich liefern die Untersuchungen von LUCAS und GRELL nicht genügend Beweise, ob die »bewimperte Vakuole« fern vom Ektoplasma unabhängig entsteht. Die von den genannten Autoren veröffentlichten Abbildungen zeigen gerade diese frühe Entwicklung nicht, aber auch im Text selbst wird von dieser nicht gesprochen. Bei lebenden Tieren hingegen wurde die Entwicklung des inneren Hohlraums und der Ciliatur nicht bis zu Ende untersucht.

Ohne weitere eingehende Untersuchung kann die Beschreibung bezüglich dieser wichtigsten Phase der Entwicklung nicht als erwiesen betrachtet werden. Die erste Phase der Schwärmerbildung der Suctorien erweckt bei mehreren Arten fast den Anschein, als ob die Entwicklung mit einem vakuolenartigen, vom Ektoplasma unabhängigen Hohlraum beginnen würde. Bei sorgfältiger Untersuchung wurde jedoch stets der Zusammenhang gefunden: die mit Invagination sich entwickelnden Arten — und zwar gerade die primitivsten — zeigen teilweise mit grosser Bestimmtheit die tatsächliche Einstülpung des Ektoplasmas (Abb. 2 b).

Ein Vergleich der Entwicklung der Ciliatur bei *Cyathodinium* und *Tachyblaston* mit der invaginativen Schwärmerbildung erwies sich deshalb als notwendig, weil der Gegensatz trotz der verwandten Züge — gerade im Anfangsstadium — scheinbar bedeutend ist. Sowohl bei den Suctorien als auch bei den Chonotrichen ist uns nur eine von einer kortikalen Anlage ausgehende Schwärmerbildung bekannt. Dies wird nicht nur durch den phylogenetischen Zusammenhang der Entwicklungstypen, sondern auch durch die eingehende Untersuchung der Entstehung des Embryoschlauchs bewiesen. Eben deshalb kann —

in Ermangelung entsprechender Beweise — der Fall von *Cyathodinium* und *Tachyblaston* keinesfalls als ein von der kortikalen Schicht unabhängig beginnender Entwicklungsprozess gewertet werden. Es verdient noch erwähnt zu werden, dass der Ciliengürtel der *Tachyblaston*- und *Cyathodinium*-Anlagen ungefähr senkrecht auf die Längsachse des sich ausstülpenden Schlauches steht, während er bei den mit invaginativer Embryobildung sich vermehrenden Suctorian ungefähr parallel mit dem Embryoschlauch verläuft und auf diese Weise fast das Wachstum des Schlauches bestimmt. Weitere vergleichende Untersuchungen sind berufen zu entscheiden, ob es auf den in der Richtung des Ciliengürtels bestehenden Unterschied zurückzuführen ist, dass sich in einem Fall nur die Ciliatur, in einem anderen der ganze Schwärmer aus dem Schlauch entwickelt.

### Allgemeine Entwicklungsfragen der Suctorian

#### *Das Problem der kortikalen Organisation des Schwärmers*

Bei der invasiven Embryobildung dient ein äusserst kleiner Ektoplasma-Spross als Grundlage für die kortikale Differenzierung des Embryos. Die Kleinheit und die Wachstumsrichtung deuten darauf hin, dass der Spross aus dem Organismus des Muttertiers weder die Grundelemente noch die Symmetrie-Verhältnisse des Organismus unmittelbar mit sich bringen kann. Der Anfangsspross muss, bevor die kortikale Organisierung des Embryos augenfällig beginnen kann, unbedingt wachsen. GUILCHER ist der Ansicht [10], dass sich zur Zeit der Invagination im einwachsenden Ektoplasma die Kinetosomen vermehren, welche letztere aus den entsprechenden kortikalen Körnchen des entwickelten Tieres entstehen und sich später in die Basalkörper der Ciliatur verwandeln. Die Frage der Kontinuität der Kinetosomen [1, 10, 21] fordert noch weitere Untersuchungen, aber selbst wenn sich diese These in vollem Ausmass bestätigen würde, wäre dies noch keine befriedigende Erklärung für die Organisierung. Die kortikale Organisation des Schwärmers ergibt sich in erster Reihe aus der spezifischen Anordnung der Basalkörper (und Nebenkörper), aus der Formung und aus dem gegenseitigen Verhältnis der Ciliatur, des Stielbildners und der Vakuolen. In dieser Formung kann die Aufgabe der Anordnung in erster Reihe der submikroskopischen Struktur des kortikalen Plasmas zufallen, wozu sich noch die bisher unbekannte Wechselwirkung der Organellen gesellt. Wir können nicht feststellen, ob diese regulierende Struktur bereits im Ektoplasma des Muttertiers praeformiert vorhanden ist oder ob sie sich erst am Anfang der Entwicklung, anlässlich der Aktivierung der Ektoplasma-Region, bildet. Zwei uns bekannte Tatsachen lassen jedoch auf ihre Anwesenheit schliessen. Erstens entwickelt sich bei Podophryen die Ciliatur des Schwärmers in einem im voraus bestimmten Gürtel, ohne dass es möglich wäre, diesen Gürtel

durch ein sichtbares Strukturmerkmal zu charakterisieren. Zweitens ist die kortikale Anlage des Embryos so klein, dass die mikroskopischen Merkmale der Organisierung auf diesem noch nicht vorhanden sein, also als praeformierter Regulator auch keine Rolle spielen können.

### *Die Rolle der Wechselwirkung der Zell-Bestandteile in der Organisierung*

Bezüglich der Wechselwirkung von Kern und Plasma bietet uns die Untersuchung des Geschlechtskerns der Ciliaten schon viele interessante Beispiele [12, 15, 23]. Es ist bekannt, dass gewisse Regionen oder Zustände des Entoplasma eine charakteristische biologische und morphologische Differenzierung der Zellkerne verursachen können. Die Wirkung ist eine gegenseitige und kann sich — infolge der Teilungs- oder Konjugationsänderung der einen bildenden Komponente — auf vielerlei Art ändern.

Die vom Plasma auf den Kern ausgeübte lokale Wirkung kommt natürlich im Laufe der Konjugationsveränderungen auch bei den Suctorien zur Geltung. Eines der interessantesten Beispiele finden wir in der inneren Konjugation von *Prodiscophrya* [12, 19]. Bei diesem Infusor gelangen nämlich beide aus der Paarung der Geschlechtskerne entstehenden Synkarionen in das Plasma des Makrokonjuganten, dort teilen sie sich und aus den so entstandenen vier Kernen entwickelt sich — von ganz wenigen Ausnahmen abgesehen — konsequent nur ein einziger zu einem Makronukleus, während die übrigen drei als Mikronuklei weiterbestehen. Dieses Beispiel ist deshalb besonders interessant, weil dadurch nicht nur die örtliche determinierende Wirkung des Plasmas bestätigt wird. Obiges Beispiel beweist nämlich auch gleichzeitig, dass selbst im Falle einer ungleichen Teilung des Synkarions phänotypisch bestimmt wird, welcher Kleinkern sich zu einem Grosskern entwickelt. Das heisst, dass selbst nach einer ungleichen Mitose je zwei Kerne gleichwertig wären, trotzdem aber entwickelt sich nur einer zu einem Grosskern.

Aus der ektoplasmatischen Differenzierung des Embryoschlauchs kann gefolgert werden, dass ähnliche Wechselwirkungen, wie sie zwischen den Zellkernen und dem Entoplasma zu beobachten sind, auch zwischen den Kinetosomen und dem Ektoplasma stattfinden. Es unterliegt keinem Zweifel, dass die örtlich ausgelöste Veränderung des Ektoplasmas zur Vermehrung und zur Organisierung der Basalkörperchen führt. Es kann mit vollem Recht vermutet werden, dass die submikroskopische polare Struktur des wachsenden Ektoplasmas richtungsbestimmend für die Anordnung der Körnchen ist. Die Wechselwirkung der im Ektoplasma sich anordnenden Körnchen kann auch schon deshalb mit der Kern-Plasma Interaktion verglichen werden, weil es sich auch bei den Kinetosomen um autonome Elemente handelt.

Die Rolle des »paroral cone« bei dem *Paramecium* zeigt, dass von diesem speziell differenzierten Gebiet auf die Geschlechtskerne irgendwie eine entfernte

Wirkung ausgeübt wird. Hingegen deutet die Organisation der Scopula auf die richtungsbestimmende Wirkung, die von einem Teil dieses eigenartigen Ektoplasmas auf die Ansammlung der im Entoplasma entstehenden Granulen ausgeübt wird. Ohne diese Wirkung könnte keine Erklärung dafür gefunden werden, wieso im Plasma fast gleichmäßig zerstreute, zur Stielbildung berufene Körnchen, in einer kleinen bezeichneten Region des Schwärmers, bei der Scopula, angehäuft sind. Diese Veränderung erinnert stark an eine andere Wechselwirkung. Nach der Ansicht von GELEI [9] entstehen die Trichocysten in einem speziellen Trichocysten bildenden Plasma und gelangen später von dort an ihre Funktionsstelle. Ebenso ist auch von den Prostomaten bekannt [25], dass ihre Trichiten im Plasma entstehen und von dort in das Cytostoma gelangen.

### Die verwandten Züge in der Entwicklung der Suctorien und der Ciliaten

Offenbar ist es nur eine Konvergenz, dass die Vermehrung der Chonotrichen und der Sphaenophryiden im wesentlichen mit der äusseren Knospung der Suctorien übereinstimmt. Hingegen muss unbedingt als Homologie betrachtet werden, wenn sich auch zwischen den einfachsten Typen von *Podophrya* und den Ciliaten viele Ähnlichkeiten in der Vermehrung zeigen. Sie stimmen darin überein, dass sie sich mit einer die Mitte des Tieres umgebenden Einschnürung, also mit einer Zweiteilung vermehren, doch auch darin zeigt sich die Übereinstimmung, dass bei beiden Exemplaren — vor der Einschnürung des Körpers — Organisationsprozesse vor sich gehen. Dieser Vorgang lässt das Cilienkleid des Schwärmers von *Podophrya* entstehen und gleichfalls dieser Prozess lässt auch bei den sich zweiteilenden Ciliaten — durch eine Verdopplung der alten Basalkörper — neue Cilien wachsen [6, 7, 8, 21]. Die der Zweiteilung vorangehende Organisierung kommt nicht nur in der Vermehrung der Cilien, sondern auch in der Entstehung von neuen Zellorganellen zum Ausdruck (neue adorale Ciliatur, neue Vakuole usw.). Bei den Infusorien der höchsten Ordnung (Hypotrichen) ist die Reorganisation der Zellorganellen sehr umfangreich, die der Teilung vorausgehende kortikale Neubildung erfolgt gleichzeitig in mehreren aktivierten Regionen [21], doch die entwicklungsmechanische Verwandtschaft ist auch hier offensichtlich, weil die Teilung stets durch die Reorganisation aktiver Regionen angeregt wird.

Dennoch kann bei der Zweiteilung von *Podophryen* eine Eigenschaft beobachtet werden, die sich bei den Ciliaten genau nicht wiederholt. Bei diesen Suctorien setzt sich nämlich die Reorganisierung des Ektoplasmas ohne Unterbrechung mit der Zweiteilung fort! Die Erneuerung des Ektoplasmas beginnt auf der Spitze, von dort »wächst« es zu beiden Seiten der Mitte des Körpers zu. Ist die Mitte erreicht, setzt sich das Wachstum des Ektoplasmas fort, doch jetzt bereits auf eine optisch wahrnehmbare Weise, da es — dem Entoplasma zu ge-

wendet — den Körper des Tieres entzweiteilt. Das Beispiel von *Podophrya* lenkt die Aufmerksamkeit darauf, dass es sich lohnen würde zu untersuchen, was für eine Beziehung bei den Typen der Ciliaten zwischen der Richtung, Verbreitung der Reorganisation und dem Erscheinen der Teilungsfurche besteht.

In der Einleitung wurde auf Grund der Feststellungen von GELEI [8] erwähnt, dass bei den Ciliaten von einer Ontogenese kaum die Rede sein kann. Der Nachkomme erhält seinen Organismus, in den Hauptzügen oder zur Gänze, während der Zweiseitung des Muttertieres. Bei den Suctorien hingegen konnten wir im Laufe der invaginativen Schwärmerbildung einen solchen Entwicklungs-gang kennen lernen, der von einer kleinen, völlig undifferenzierten Anlage zu einem Schwärmer mit entwickelter Organisation führt. Hier ist die Ontogenese nicht zu bezweifeln. Es wurde von uns auch darauf hingewiesen, dass die Entwicklungs-typen der Suctorien in den Anfangsschritten übereinstimmen. Jede Schwärmerbildung beginnt mit der Aktivierung einer kortikalen Region. Die auf Ontogenese beruhende Verwandtschaft zwischen der Teilung der Ciliaten und der kompliziertesten Entwicklung der Suctorien ist, falls sie in der Anfangs-phase gesucht wird, stets auch zu finden. Bei der invaginativen Schwärmer-bildung entsteht aus der aktivierten, undifferenzierten Anlage zur Gänze ein neuer Nachkomme, bei der Teilung hingegen entstehen aus der aktivierten, undifferenzierten Anlage (oder aus den Anlagen) neue Organellen. Diese Orga-nellen sind — z. B. im Falle von Hypotrichen — derartig zusammengesetzt, dass ihre Ausbildung entwicklungsgeschichtlich keine geringere Leistung darstellt, als die invaginative Entwicklung eines Suctorien-Schwärmers. Bei den Suctorien tritt die Entwicklung in allen Fällen auffallender in Erscheinung, da sie mit der alten Organisation kaum im Beziehung steht.

Schliesslich sei noch erwähnt, dass die ohne Teilung vor sich gehende Reorganisation des entwickelten Tieres nicht nur bei den Suctorien bekannt ist. So wie ein jeder Typus der Suctorien fähig ist, sich auch in seiner Gänze in einen Schwärmer zu verwandeln [4, 13], genau so verfügen auch die Ciliaten über die Fähigkeit, die Mund- oder andere Organellen ohne Zweiseitung an anderen Stel- len neu zu bilden [7]. Diese Neubildung kann — ganz wie die reorganisatorische Schwärmerbildung der Suctorien — mehrmals nacheinander erfolgen [5]. Die häufige Metamorphose der Zellorganisation ist gleichsam der morphologisch-entwicklungsgeschichtliche Ausdruck dessen, was von der Biochemie in neuester Zeit im Zusammenhang mit der stetigen Erneuerung der Eiweiss-Moleküle nachgewiesen wurde.

### Die Ontogenese der Protozoen und Metazoen

Eine Vergleichsbasis finden wir vor allem in der invaginativen Schwärmer-bildung. Mit Hilfe entsprechender Versuche kann bei beiden Tiergruppen ein ähnliches Problem, aber jeweils auf anderem Niveau, untersucht werden. Während

die Ontogenese der Metazoen die Organisationsprobleme der Vielzeller in sich schliesst, lässt die innere, besonders die invaginative Embryobildung der Protozoen die entwicklungsmechanischen Probleme der Zellbildung in den Vordergrund treten. Sowohl in der Problematik als auch in der Methodik können viele überraschende Ähnlichkeiten zur Geltung kommen. Eben deshalb ist es keine zwecklose Analogisierung, die Ontogenese der beiden Tiergruppen zu vergleichen.

a) Die Invaginationsstelle ist bei beiden Gruppen im voraus bestimmt. Mit der Determination der Stelle der Embryobildung und der Symmetrieverhältnisse bei den Suctorien beschäftigten wir uns bereits in einer früheren Arbeit [18]. Hiervon selbst bietet sich die Gelegenheit eines Vergleiches mit den Mosaik-Eiern. Die Gebundenheit der Stelle der Metazoen-Gastrulation und die damit im Zusammenhang stehenden Probleme sind gut bekannt [2, 22, 24].

b) Bei Untersuchung der Frage, was das Ektoplasma aktiviert und zur Invagination veranlasst, sehen wir uns Problemen gegenübergestellt, die denen der Gastrulation der Metazoen ähnlich sind. Genau so wie bei den Vielzellen, muss auch bei den Infusorien die Hypothese der Forschungsarbeit im Begriff der Stoffwechsel-Gradienten gesucht und die Untersuchung in dieser Richtung fortgesetzt werden.

c) Die Invagination und die Gastrulation sind nicht nur darin einander ähnlich, dass das Schema der Entwicklung übereinstimmt, sondern auch darin, dass hier tatsächlich zwei Schichten verschiedener Struktur und verschiedenen entwicklungsmechanischen Wertes in der Entwicklung aufeinander wirken.

Das kortikale Plasma wächst und organisiert sich — wie ein Infusorien-Keimblättchen — in dem Entoplasma, das — in Kooperation mit dem Zellkern — die Kontinuität des zum Wachstum und zur Organisierung nötigen Stoffwechsels sichert. Wir rechnen damit, dass die Feststellung, wonach die Invagination die Kopie der Gastrula-Bildung wäre, den Eindruck der Oberflächlichkeit erweckt. Dennoch ist der Vergleich zutreffend, denn wenn wir die invaginative innere Knospung (Schwärmerbildung) mit der Endogastrula vergleichen, so kann die auf experimentellem Wege herstellbare Exogastrula mit der bei den Suctorien sehr verbreiteten äusseren Knospung analogisiert werden. Tatsächlich ist die Gastrulation nicht eine Bildung von Zellteilen, sondern eine solche von Zellschichten, d. h. Keimblättchen. Mit dem obigen Vergleich soll gerade das ausgedrückt werden, dass der Vorgang, der in der Entwicklung der Metazoen mit Zellschichten vor sich geht, bei gewissen Typen der Suctorien mit Zellbestandteilen stattfindet. In demselben Masse, wie es zutrifft, dass sich der einzellige Infusor nicht mit Zellschichten organisiert, im selben Masse trifft es — unseres Wissens — zu, dass die Metazoen-Zelle zu einer endozellulären Invagination nicht fähig ist. Der Gang der Entwicklung, das sich während der Invagination zeigende ähnliche Verhältnis zwischen Ekto- und Entoplasma und Ekto- und Entoderma beweisen, dass es sich bei der invaginativen Embryobildung tatsächlich um eine endozelluläre Kopie der Gastrulation handelt.

Ebenso natürlich wie die Kooperation von Kern, Ekto- und Entoplasma in der kortikalen Organisation erscheint, ebenso berechtigt ist es, bei der Ontogenese als bezeichnendes Moment die kortikale Organisation hervorzuheben und den Vergleich in erster Reihe mit dem Verhalten des Ektoplasmas zu begründen. Zur Motivierung seien zwei Tatsachen angeführt:

1. In den kortikalen Organellen der Infusorien manifestiert sich die Organisierung derselben am reichsten. Die Wichtigkeit dieser kortikalen Organisierung zeigt sich darin, dass auch in der Charakterisierung und Umgrenzung der Arten, Gattungen, Familien und sogar der Ordnungen, nicht die Differenzierungen des Entoplasmas und noch weniger die der Kerne, sondern die kortikalen Organellen und Strukturen eine wichtige Rolle spielen.

2. Ekto- und Entoplasma unterscheiden sich voneinander nicht nur im Charakter der Differenzierung, sondern — ähnlich dem Ekto- und Entoderma — auch darin, dass sie sich bei den Infusorien gegenseitig zur Gänze nicht ersetzen können. Das auf einer kleinen Fläche verstümmelte Tier ist häufig sogar unfähig, die spezifischen Ektoplasma-Differenzierungen zu regenerieren [21].

Es sei noch bemerkt, dass das kortikale Plasma — z. B. bei dem Eiern des Seeigels — unersetzlich ist: das Ei geht zugrunde, wenn die kortikale Schicht entfernt wird.

#### LITERATUR

1. CHATTON, E., LWOFF, A., LWOFF, M., TEILLIER, L. (1929) L'infraciliature et la continuité génétique des blépharoplastes chez l'acinétien *Podophrya fixa* O. F. MÜLLER. *C. R. Soc. Biol.*, **100**, 1191—1196.
2. CHILD, C. M. (1953) Redox indicator patterns in relation to echinoderm exogastrulation. I. Oxidation patterns. *Biol. Bull.*, **105**, 62—79.
3. COLLIN, B. (1911) Étude monographique sur les Acinétiens. I. *Arch. zool. exp. gen.*, **50**, 421—497.
4. COLLIN, B. (1912) Étude monographique sur les Acinétiens. II. *Arch. zool. exp. gen.* **51**, 1—457.
5. DEMBOWSKA, W. S. (1938) Körperreorganosation von *Stylonychia mytilus* beim Hungern. *Arch. Protistenk.*, **91**, 89—105.
6. GELEI, J. (1934) Das Verhalten der ektoplasmatischen Elemente des *Parameciums* während der Teilung. *Zool. Anz.*, **107**, 161—177.
7. GELEI, J. (1936) Das erregungsleitende System der Ciliaten. *C. R. XII. Congr. Internat. Zool.* 1935, *Lisbonne*, 174—206.
8. GELEI, J. (1950) Die Morphogenese der Einzeller mit Rücksicht auf die morphogenetischen Prinzipien von SEWERTZOFF. *Acta Biol. Hung.*, **1**, 69—134.
9. GRELL, K. G. (1953) Der Generationswechsel des parasitischen Suktors *Tachyblaston ephelotensis* MARTIN. *Z. Parasitenk.*, **14**, 499—534.
10. GUILCHER, Y. (1951) Contribution à l'étude des Ciliés gemmipares. Chonotriches et Tentaculifères. *Ann. Biol.*, **26**, 465—478.
11. KORMOS, J. (1935) Adatok a Suktoriusok fejlődésének ismeretéhez. Beiträge zur Kenntnis der Entwicklung der Suktoren. *Mat. Term.-tud. Ért.*, **53**, 522—541.
12. KORMOS, J. (1935) A *Prodiscophrya Collini* ivari kétlakúsága és konjugációja. Geschlechtsdimorphismus und Konjugation bei *Prodiscophrya Collini* Root. *Állatt. Közl.*, **32**, 152—168. (Ungarisch; deutsche Zusammenfassung.)
13. KORMOS, J. (1938) Fejlődéstani vizsgálatok a Szívókásokon (Suctoria). Entwicklungs-geschichtliche Untersuchungen an Suctoren. *Mat. Term.-tud. Közl.*, **38**, 1—95. (Ungarisch.)

14. KORMOS, J. (1938) A Szívókások szívócsöveinek szerkezete és működése. Bau und Funktion der Saugröhren der Suctoriens. *Állatt. Közl.*, **35**, 130—153. (Ungarisch; deutsche Zusammenfassung.)
15. KORMOS, J. (1940) Az ázalékállatok konjugációjának néhány problémája. Über einige Probleme der Konjugation bei Infusorien. *Állatt. Közl.*, **37**, 39—58. (Ungarisch; deutsche Zusammenfassung.)
16. KORMOS, J., KORMOS, K. (1956) Neue Untersuchungen über den Geschlechtsdimorphismus bei Prodiscophryen. *Acta Biol. Hung.*, **7**, 109—125.
17. KORMOS, J., KORMOS, K. (1957) Die entwicklungs geschichtlichen Grundlagen des Systems der Suctoriens. *Acta Zool. Hung.* (Im Druck.)
18. KORMOS, J., KORMOS, K. (1957) Determination in der Entwicklung der Suctoriens. I. Die Determination der Stelle der Embryoorganisierung. *Acta Biol. Hung.*, **7**, 365—383.
19. KORMOS, J., KORMOS, K. (1957) Unveröffentlichte Resultate.
20. LUCAS, M. S. (1932) The cytoplasmic phases of rejuvenescence and fission in *Cyathodinium piriforme*. II. A type of fission heretofore undescribed for ciliates. *Arch. Protistenk.*, **77**, 407—423.
21. LWOFF, A. (1950) Problems of morphogenesis in Ciliates. Willy, New York.
22. MÜHLDORF, A. (1951) Die Zellteilung als Plasmateilung. Springer, Wien.
23. NANNEY, D. L. (1953) Nucleo-cytoplasmic interaction during conjugation in *Tetrahymena*. *Biol. Bull.*, **105**, 133—148.
24. UBISCH, L. (1953) Entwicklungsprobleme. Fischer, Jena.
25. WEINREB, S. (1955) *Homalozoon vermiculare* (STOKES). I. Morphology and reproduction. II. Pharyngeal granules and trichites. *J. Protozool.*, **2**, 59—70.

### ОНТОГЕНЕЗ ПРОСТЕЙШИХ

У самых видоизмененных, инвагинативных типов простейших кортикальная организация бордяжек образуется из такого маленького, недифференцированного отростка эктоплазмы, что на этом основании развитие можно рассматривать настоящим онтогенезом.

Типы развития *Suctoriae* в начальной стадии пленоною совпадают. Именно образование бордяжек, также как и превращение животных целиком в бордяжки у всех типов начинается активацией небольшого пятна кортикальной плазмы, и продолжается организованным прорастанием активизированного пятна.

На основании совпадения начальной фазы выявляется связь различных типов развития. При делении и полувнутреннем почковании активизированное пятно продолжает организационное разрастание на поверхности вплоть до отшнуровывания тела бордяжки, при внешнем почковании активизированное пятно эктоплазмы поднимается и разрастает наружу, а при внутреннем почковании оно углубляется и продолжает разрастаться циркумвагинативно, или инвагинативно.

Гомологичность механики развития также доказывает, что главные типы развития *Suctoriae* образовались без перехода, скачкообразно один из другого, или же из деления

Деление ресничатых инфузорий совпадает с делением *Suctoriae* в том, что делению всегда предшествуют кортикальные регенеративные процессы подобного характера (возобновление клеточных органов).

Инвагинативное образование зародышей является внутриклеточной аналогией гаструляции *Metazoa*, не только с точки зрения способа развития, но и по взаимному отношению экто- и эктоплазмы, подобному взаимоотношению экто- и энтодермы.

### ONTOGENESIS OF PROTOZOA

The ectoplasm-initiative from which the cortical organization of the ciliated buds originates is so minute and undifferentiated in the most modified, invaginative type of protozoan development that it is justified to regard this type of development as true ontogenesis.

The initial phase is identical in all types of suctorial development. The formation of buds and the conversion of the entire animal into bud begin in all types of development with the activation of a small spot of the cortical plasm, to be followed by its organized growth.

That the various types of development are closely interrelated is an obvious inference from the similarity of the initial phase in all types. In the case of binary fission and partly

internal budding it is on the surface that the said activated spot continues to grow until the bud becomes constricted; if budding is external, the activated spot of the ectoplasm will rise and grow outward; in the case of internal budding the ectoplasm forms a depression and continues to grow either circumvaginatively or invaginatively.

The homology of ontogenetic mechanism makes it evident that there were no transitional stages between the various types of development, and that it was by jumps that these types arose from one another and the binary fission.

The division of Ciliata is similar to that of Suctoria in that it is preceded in both cases by cortical reorganization processes of a similar character (renewal of cell organs).

Invaginative embryo formation is an intracellular replica of the gastrulation of Metazoa as regards both mode of development and the similarity of the mutual relationship between ectoplasm and endoplasm on the one side and ectoderm and endoderm on the other.

JÓZSEF KORMOS, Szeged, Táncsics Mihály u. 2. Ungarn.

KATALIN KORMOS, Szeged, Táncsics Mihály u. 2. Ungarn.

# ÜBER DIE BLATTEPIDERMIS VON GINKGO BILOBA L.

G. J. MAÁCZ

BOTANISCHES INSTITUT DER UNIVERSITÄT, SZEGED (VORSTAND: P. GREGUSS)

(Eingegangen am 14. Juli 1956)

## Zusammenfassung

Auf Grund mikroskopischer Untersuchungen wurden die untere und die obere Blattepidermis verglichen und festgestellt, dass auf der oberen Epidermis des hypostomatischen Blattes und auf der Kante der Blattspreite die rudimentären Spuren der Spaltöffnungen zu finden sind. Auf der Kante der Blattspreite ist sogar ein entwickeltes — wenn auch kleines — Stoma anzutreffen. Auf Grund der Untersuchungen wird in vorliegender Arbeit der Vorgang skizziert, in dessen Verlauf sich das Blatt von der amphistomatischen *G. adiantoides* zum hypostomatischen *G. biloba*-Blatt entwickelte.

## Fragestellung

Das Blatt von *Ginkgo biloba L.*, des einzigen heute lebenden Vertreters der im Tertiär so verbreiteten *Ginkgo*-Gattung, stimmt makroskopisch mit dem Blatt von *G. adiantoides* (UNGERS Synopsis: *Salisburya adiantoides*) überein. Die feinere Kutikularanalyse erbrachte jedoch den Nachweis, dass sich auf der oberen Blattepidermis der im Tertiär lebenden *Ginkgo* Stomata befanden [4] und zwar am Rande des Blattes. OISHI trennt auf dieser Grundlage die lebende und die fossile Art, da nämlich auf der oberen Epidermis des Blattes der rezenten *Ginkgo* keine Spuren der Spaltöffnungen vorhanden sind.

Das von OISHI untersuchte Blatt stammt aus dem Oligozän. Da seither nur eine — in geologischer Hinsicht — kurze Zeit verflossen ist, kann damit gerechnet werden, dass auf der oberen Blattepidermis von *G. biloba* die Spuren der Spaltöffnungen zu finden sein werden.

## Material und Methodik

Die Blattepidermis der in Ungarn zu den Zierpflanzen zählenden *G. biloba* wurde mit der SCHULTZESCHEN Mazeration bearbeitet [1]. Zur Färbung wurde — nach der Ausprobierung von mehreren anderen Farben — das Vesuvin als geeignet befunden. Doppelfärbungen — z. B. Malachitgrün-Vesuvin — führten infolge der schwachen Verholzung der Zellwände zu keinem vollen Erfolg. Bei der Differenzierung mit Alkohol blieb das Malachitgrün nur in den stärker entwickelten Papillen erhalten. Das Präparat wurde in Gummi Arabicum eingeschlossen.

Die Untersuchungen erstreckten sich auf den Rand des Blattes bzw. auf den der Blattlappe. Nach Oishi befanden sich hier die Stomata auf der oberen Blattepidermis der tertiären *Ginkgo* (bei OISHI — irrtümlich — unter dem Namen der mesozoischen *Ginkgoites* angeführt). Es bestand also die begründete Aussicht, dass die Spuren der Stomata auf dem Blatt der rezenten Art zu finden sein werden.

### Allgemeine Beschreibung

Das Blatt ist mehr oder weniger zweilappig, lederartig. Der Blattrand ist glatt, die Blattspreite wird — der Basis zu verlaufend — gleichmässig schmäler und geht allmählich in den Blattstiel über. Der Rand der Blattlappe ist ein wenig gewellt. Das Blatt ist hypostomatisch, die Blattnervatur gabelartig verzweigt (Abb. 1).

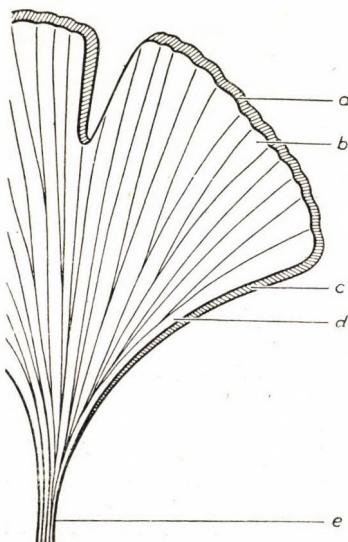


Abb. 1. Schematische Darstellung des Blattes von Ginkgo. a — Kante der Blattlappe, b — Rand der Blattlappe, c — Kante der Blattspreite, d — Rand der Blattspreite, e — Blattstiel

### Ausführliche Beschreibung

*Untere Blattepidermis.* Die Zellen sind parallel mit der Längsrichtung über den Blattnerven gelagert. In den von den Nerven eingeschlossenen Gebieten ist diese Gleichmässigkeit bereits weniger auffallend. Wo die vereinzelt angeordneten Stomata schütterer stehen, dort sind die Schliesszellen in zwei-, dreifachen konzentrischen Kreisen von den Nebenzellen umgeben (Abb. 2, 7). Im allgemeinen sind die Papillen auf den Nebenzellen besser entwickelt, als auf den übrigen Zellen der unteren Epidermis (Abb. 7). Die polare Nebenzelle ist oftmals in die Länge gezogen und mit proximalen Papillen versehen. Die Kutikula der stärkeren Papillen ist gestreift. Im Falle von dichter angeordneten Stomata ist das charakteristische Stoma-Bild entstellt, verändert.

Rings um die Spaltöffnungen sind also nach einem gewissen System angeordnete Zellen, entwickelte Papillen zu beobachten. Untersuchen wir jedoch

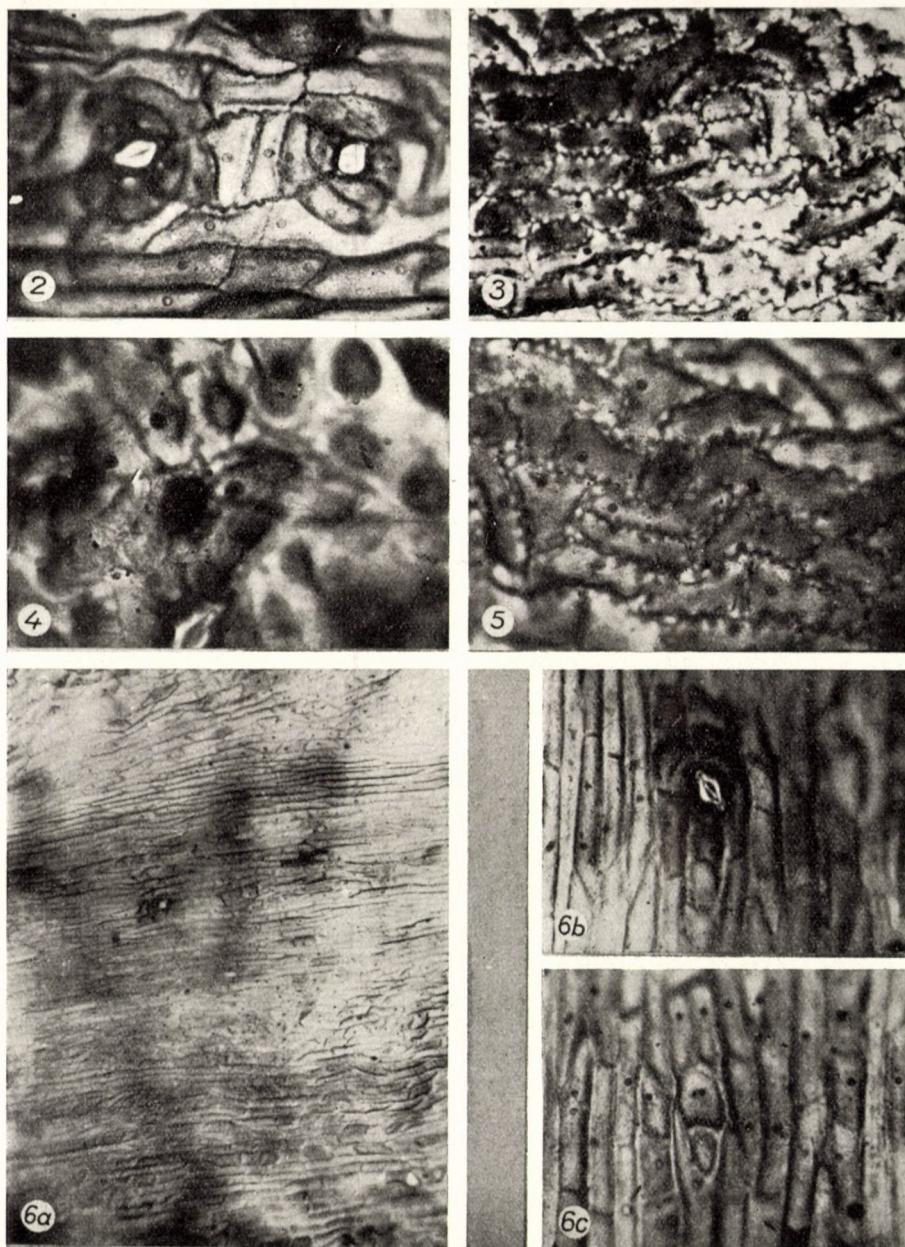


Abb. 2. Untere Epidermis. Konzentrisch angeordnete Nebenzellen. 3. Obere Epidermis. Konzentrisch angeordnete Nebenzellen. Zentral, parallel mit der Längsrichtung des Blattes zwei rudimentäre Schließzellen. 4. Untere Epidermis. Konzentrische (»stomatische«) Anordnung. In der Mitte — an der Stelle des Stomas — eine Zelle mit einer Papille. 5. Obere Epidermis. Verschwommene stomatische Anordnung. In der Mitte eine Zelle mit Papillenanlage. 6a. Kante der Blattspreite ausgebreitet. Auf der Abbildung ist unten die untere, oben die obere Epidermis zu sehen. In der Mitte die kleine Spaltöffnung, die von mit Papillen versehenen Nebenzellen umgeben ist, in einer Reihe damit, ein wenig rechts, ein rudimentäres Stoma. 6b. Das vorige Stoma vergrößert. 6c. Das vorige rudimentäre Stoma vergrößert

die stomafreien Gebiete, so finden wir auch dort solche Stellen, wo rings um die Spaltöffnungen eine für die dieselben umgebenden Zellen charakteristische Anordnung zwar zu finden, in der Mitte aber keine Spaltöffnung vorhanden ist (Abb. 4). Auf der in der Mitte befindlichen einzigen Zelle ist eine — die übrigen an Grösse übertreffende — Papille festzustellen.

Die Ursache der beobachteten Erscheinung kann darin gesehen werden, dass sich die Zellen der Blattepidermis von *Ginkgo* vom haplocheilem Stomatotypus [1] im Laufe der Ontogenese zwar noch differenzierten, die Teilung der Stoma-Mutterzelle aber bereits nicht mehr stattfand.

*Obere Epidermis.* Die Zellen sind, besonders über den Blattnerven parallel mit der Längsrichtung angeordnet, der Form nach sind sie spindelförmig oder viereckig, die Zellwand ist schwach gewellt. Manchmal sind jedoch die Zellen — besonders in der Nähe des Blattrandes und des Randes der Blattlappe — sehr kurz, die Anordnung entlang der Längsrichtung verschwindet und es können auf die vorige Richtung senkrecht — oder in Bezug auf das ganze Gebilde konzentrisch — stehende Zellgruppen beobachtet werden.

Abb. 3. zeigt zwei in einem Zentrum stehende Zellen die nach Lage und Form zu urteilen, nur aus einer der Stoma-Mutterzelle ähnlichen Zelle entstehen konnten. Diese Folgerung gestatten die konvexe äussere Zellwand, sowie die beiden entlang einer geraden Linie sich berührenden inneren Zellwände.

In der Abb. 5. ist die konzentrische Anordnung nicht so klar zu erkennen. Den Mittelpunkt lässt jedoch die einzige Zelle mit grossen Papillen auffallend hervortreten, obwohl die Zellen der oberen Epidermis ansonsten keine Papillen haben.

*Kante der Blattlappe* (Abb. 1 a). Die Zellen sind kurz, der Form nach vier-eckig bzw. polygonal. Der Zelltypus der unteren Epidermis geht allmählich in den Zelltypus der Kante der Blattlappe über. Das Kürzerwerden der Zellen und das Verschwinden ihrer gleichmässigen Anordnung erfolgen in den hervortretenden Teilen oberhalb der Nerven schneller, als in den Gebieten zwischen den Nerven (Abb. 9). An den Zellen sind keine Papillen festzustellen (Abb. 8, 9).

Die für die Spaltöffnungen charakteristische konzentrische Anordnung ist ausgesprochen auf der Kante, ferner — ein wenig oberhalb der vorigen Anordnung — am äusseren Rand der oberen Epidermis zu sehen (Abb. 9, in der Mitte). Abb. 10 zeigt vergrössert die letztere Anordnung, die stärker kutinisierten Nebenzellen (»polare Nebenzellen«) gestalten das für die Stomata bezeichnende Bild noch auffallender.

*Kante der Blattspreite* (Abb. 1 c). Die in die Länge gezogenen Zellen sind parallel mit der Längsrichtung gelagert (Abb. 6 a). Der Übergang zwischen der oberen und der unteren Epidermis ist zwar ein schneller, aber kein sprungartiger. Die Zellwände zeigen einen geraden Ablauf, Papillen sind nicht vorhanden. Das ganze Bild ist den Zellen oberhalb der Blattnerven auf der oberen Epidermis täuschend ähnlich. Eine Spaltöffnung ist nicht zu beobachten.

Eingehendere Untersuchungen liessen jedoch erkennen, dass sich auch auf der Kante der Blattspreite Stomata befinden, ebenso sind auch — ähnlich wie auf der oberen Epidermis — die rudimentären Spaltöffnungen zu finden (Abb. 6a). Abb. 6b zeigt — in stärkerer Vergrösserung — das kleine, auf der

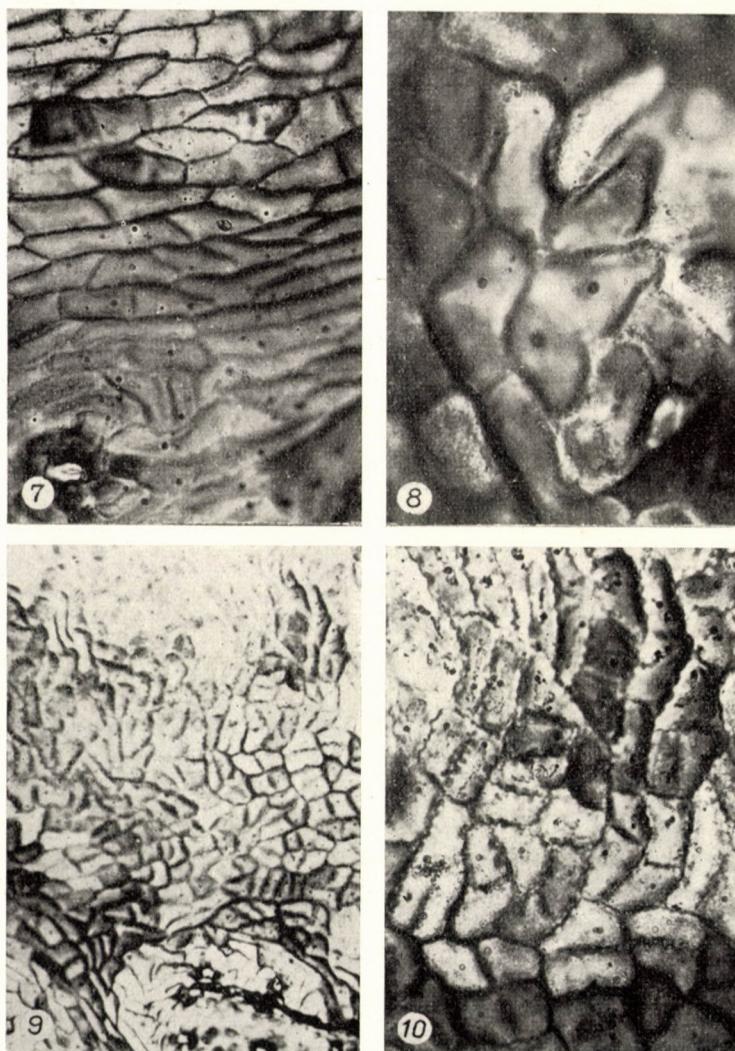


Abb. 7. Die Kante der Blattspreite in der Nähe der unteren Epidermis. Rudimentäres Stoma. 8. Kante der Blattlappe. Konzentrisch angeordnete Zellen, ringsum einige Zellen mit Papillen. 9. Kante der Blattlappe. Oben: obere Epidermis, unten: untere Epidermis. In der Mitte der Blattkante: konzentrische Anordnung, mit einer einzigen Zelle in der Mitte. Im oberen rechten Viertel des Bildes: mehrfach konzentrisch angeordnete Zellen. In der Mitte eine einzige »Stoma-Mutterzelle«. Darunter und darüber die stärker kutinisierten »polaren Nebenzellen«. 10. Vorige Abbildung vergrössert

Kante der Blattspreite gefundene Stoma, rings um das Stoma sind die mit stärker gewölbter Wandung, mit Papillen anlagen versehenen, kutinisierten Nebenzellen zu beobachten. Unter dem Stoma ist eine kleine rudimentäre Spaltöffnung (Abb. 6 a, vergrössert 6 c), mit einer sehr kurzen »Stoma-Mutterzelle«, darunter mit einer kleinen, dreieckigen »polaren Nebenzelle« gelagert.

Einen ähnlichen Fall zeigt die Abb. 7, wo auf der Kante der Blattspreite, in dem näher zur unteren Epidermis liegenden Teil, eine Zellgruppe mit stomatischer Anordnung zu sehen ist. Die stomaartige Erscheinung wird durch die »Nebenzellen« mit entwickelten Papillen stark betont.

### Diskussion

Im Laufe der Untersuchungen wurde also — im Zusammenhang mit der Blattepidermis der rezenten *Ginkgo* — mit Sicherheit eine gewisse Parallelität zwischen der oberen und der unteren Epidermis beobachtet, auf Grund welcher folgendes festgestellt werden kann :

1. Auf der oberen Epidermis können die Stellen der Spaltöffnungen — infolge der charakteristischen Anordnung der Zellen — klar erkannt werden.
2. Die oben erwähnte stomatische Anordnung ist auch auf der Kante der Blattspreite und der Blattlappe zu finden. Auf der Kante der Blattspreite konnten sogar nicht nur die rudimentären Spuren der Spaltöffnungen, sondern auch das Stoma selbst nachgewiesen werden.
3. Aus obigen Feststellungen ergibt sich, dass die obere und die untere Epidermis, sowie die Epidermis auf der Kante der Blattspreite miteinander homolog sind.

Aus all dem können wir folgern, dass *G. biloba* mit hypostomatischen Blättern auch auf Grund der Struktur der Blattepidermis als ein unmittelbarer Nachkomme der tertiären amphistomatischen *G. adiantoides* betrachtet werden muss.

Am Blatt der rezenten *Ginkgo* sind die Spaltöffnungen zerstreut angeordnet. FLORIN [1] machte die Beobachtung, dass auf den schmäleren Blättern oder auf den Blattlappen der fossilen Arten die Spaltöffnungen (parallel mit der Längsrichtung) regelmässiger gelagert waren, als dies im Falle der rezenten Art zu beobachten ist. Auch die kutinierte äussere Schicht war damals besser entwickelt. Ähnlicherweise lenkt KRÄUSEL [3] — im Zusammenhang mit dem Blatt der fossilen Gymnospermen — die Aufmerksamkeit auf die starke Papillenbildung. In seiner diesbezüglichen Arbeit deutet der genannte Forscher die Papille als ein phylogenetisches Merkmal, das bei den entwicklungsgeschichtlich jungen Arten fehlt. Ferner vertritt er die Ansicht, dass der transpiratorische Schutz nicht durch die starke Kutikula und die Papillen, sondern durch das ausgeschiedene Wachs gesichert wird.

Das Blatt der *Ginkgo*-Arten — der Ginkgoaceen — war also im Laufe der Entwicklung, verhältnismässig spät, auch noch im Oligozän, amphistomatisch,

obwohl sich auf der oberen Epidermis bereits weniger Spaltöffnungen befanden, als auf der unteren. Die Entwicklung führte also von dem isolateralen, zum dorsiventralen Blatt. Dieser letzte Zustand wurde von *Ginkgo* in vollem Masse auch bis heute noch nicht erreicht, ein Umstand, der nicht nur durch die stomatisch angeordneten Zellgruppen (»rudimentären Stomen«) der oberen Epidermis, sondern auch durch die auf der oberen Kante der Blattspreite befindlichen Spaltöffnungen bewiesen wird. Die wichtigeren Stationen in der dorsiventralen Blattausbildung von *Ginkgo* können auf Grund der hier mitgeteilten Untersuchungen im folgenden zusammengefasst werden.

1. Die Stoma-Mutterzellen der oberen Epidermis verlieren langsam ihre Teilungsfähigkeit oder verwandeln sich — falls eine Teilung erfolgt — nicht in Schliesszellen (Abb. 3, 5). Am längsten bewahren die am Rande der Blattspreite bzw. der Blattlappe befindlichen Zellen ihre Teilungsfähigkeit, was zur Folge hat, dass die stomatische Anordnung bei dem heutigen *Ginkgo* am besten an den genannten Stellen beobachtet werden kann.

2. Die Neigung zur Papillenbildung, die oftmals nur auf der stärker konvexen, bzw. stärker kutinisierten äusseren Wand der Zellen zum Ausdruck kommt, besteht noch eine lange Zeit weiter, obwohl sie ihre Bedeutung als stomatische, die Transpiration vermindernde Vorrichtung bereits verloren hat (Abb. 3, 6 c, und 7).

3. Schliesslich beweisen die um einen Mittelpunkt (um eine »rudimentäre Stoma-Mutterzelle«) ± systematisch gelagerten Zellen, dass sich an dieser Stelle früher eine Spaltöffnung befand (Abb. 5, 10).

Es muss noch erwähnt werden, dass das Palisaden-Parenchym von *G. biloba* (im Blattquerschnitt untersucht) nicht typischer Art ist, d. h. im Längen- und Breiten-Verhältnis der Zellen kommt eine allgemeine Unsicherheit zum Ausdruck. Es kommen zwar auch lange Zellen — im Verhältnis 2 : 1 — vor, doch sind unter ihnen auch solche zu finden, wo das Verhältnis zwischen Länge und Breite 3 : 4, 1 : 1 beträgt. Manchmal können wir sogar Zellen feststellen, die schon eher flach zu nennen sind und an das Schwammparenchym erinnern.

Nach der Auffassung von ZIMMERMANN weist der Spross im allgemeinen eine radiale, das heutige Kormophyten-Blatt hingegen eine dorsiventrale Symmetrie auf. Auf Grund der gegenwärtigen Untersuchung kann behauptet werden, dass die dorsiventrale Entwicklung des Blattes von *Ginkgo* auch heute noch nicht beendet ist.

Ferner kann festgestellt werden, dass das Blatt von *Ginkgo* keine ausgesprochene Kante hat, wie dies — mit Ausnahme einiger phyllocladischer Glieder der Podocarpaceen — bei den übrigen Gymno- und Angiospermen zu beobachten ist. Die Zellen am Rande der Blattspreite und auf der Kante der Blattlappe gehen allmählich in den Zelltypus der oberen und unteren Epidermis über. Es muss jedoch bemerkt werden, dass die Zellen auf der Kante der Blattlappe in Form und Anordnung wesentlich von dem in die Länge gezogenen

Zelltypus am Rande der Blattspreite abweichen. Die Kante der Blattlappe stimmt weder morphologisch, noch physiologisch mit der der Blattspreite überein. In anomalen (atavistischen) Fällen erscheinen nämlich die Samenanlagen nicht am Rande dieser Blattspreite, sondern auf der Kante der Blattlappe (»Telomaenden«). In solchen Fällen verhält sich das Blatt wie ein verflachter Spross (halb fertiles Teloma). GREGUSS [2] reiht *Ginkgo* — auf Grund der xylotomischen Merkmale und auf Grund des Blattes — tatsächlich in die Gruppe der makrophyllen Pteropsiden, von welcher Gruppe er annimmt, dass ihr Blatt, was den Ursprung anbelangt, sprossartig ist.

An dieser Stelle sei auch dem Universitätsprofessor DR. PAUL GREGUSS, der uns im Laufe der Untersuchungen bereitwilligst mit Tat und Rat zur Seite stand, unser aufrichtiger Dank ausgesprochen.

#### LITERATUR

1. FLORIN, R. (1931) Untersuchungen zur Stammesgeschichte der Coniferales und Cordaitales. *Kungl. Svenska Vetenskapsakad. Hand.*, **10** (1), 1—588.
2. GREGUSS, P. (1955) Xylotomische Bestimmung der heute lebenden Gymnospermen. Akadémiai Kiadó, Budapest.
3. KRÄUSEL, R. (1923) Paläobotanische Notizen. VII. Über Papillenbildung an den Spaltöffnungen einiger fossiler Gymnospermen. *Senckbg.*, **5**, 81—96.
4. OISHI, S. (1938/39) On the Cuticles of tertiary *Ginkgoites* leaves from Kuzi, Iwate Prefecture. *J. Fac. Sci. Hokkaido Imp. Univ., Ser. IV., Geol. & Miner.*, **4**, 103—106.
5. ZIMMERMANN, W. (1930) Die Phylogenie der Pflanzen. Fischer, Jena.

#### ЛИСТОВОЙ ЭПИДЕРМИС *GINKGO BILOBA* L.

Сопоставлялись на основании микроскопических исследований нижний и верхний эпидермисы листьев. При этом было установлено, что на верхнем эпидермисе гипостоматических листьев и на краю пластинки листьев обнаруживаются зачаточные следы устьиц, а на краю листовой пластинки встречаются даже вполне развитые устьицы, хотя и меньших размеров. На основании проведенных исследований автором дается краткое изложение процесса, в ходе которого амфистоматический лист *G. adiantoides* превратился в гипостоматический лист *G. biloba*.

#### LEAF EPIDERMIS OF *GINKGO BILOBA* L.

The lower and the upper epidermis of the leaf were compared in the course of microscopic examinations. On the upper epidermis and along the edge of the leaf blade of the hypostomatic leaf rudimentary traces of stomata were found and along the edge of the leaf blade even well developed but small-sized stomata could be detected. Based on his investigations author sketches the process of the change of the amphistomatic *G. adiantoides* leaf into hypostomatic *G. biloba* leaf.

GYÖRGY JÁNOS MAÁCZ, Szeged, Dobó u. 9., Ungarn

# NEW DATA REGARDING THE REGULATION OF THE RES OF THE LIVER BY THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM

GY. CSABA and GY. RAPPAY

DEPARTMENT FOR MORPHOLOGY, RESEARCH INSTITUTE FOR EXPERIMENTAL MEDICINE  
OF THE HUNGARIAN ACADEMY OF SCIENCES, BUDAPEST (HEAD: I. TÖRÖ)

(Received August 11, 1956)

## Summary

The reticuloendothelial system of the liver is regulated in the following manner: impulses coming from the cortex, and thus in the first line from the frontally situated regions, which are transmitted to the mammillary group of nuclei through the ventral nucleus of the thalamus, produce a reduction of the storing capacity. An elimination of this inhibition, together with the liberation of the mammillary group, is followed by increased storage.

The paraventricular nucleus, a parasympathetic element, acts as a check to storage.

The present experiments do not justify the assumption of special cerebral centres controlling the RES: what actually seems to happen is that those regions of the brain which are responsible for sympathetic and parasympathetic reactions produce at the same time corresponding changes in the functioning of the reticuloendothelial system.

## Introduction

Earlier experiments of the present authors were likewise concerned with the control exercised by the central nervous system upon the reticuloendothelial system of the liver, and had the object to observe the changes occurring in the activity of the hepatic RES after pharmaceutical and surgical treatments of the central nervous system. In appreciating the said changes, solely the silver-storing capacity of the Kupffer-cells was taken into consideration, and TÖRÖ—VELÖSY's [14, 15] microchemical method was used to determine the amount of hepatically stored silver.

The drugs employed to affect the vegetative nervous system were actedron, caffeine, yohimbine and picrotoxin; besides, pain was also made use of to stimulate the said system. The experiments in question led to the conclusion that the RES of the liver is controlled by the central nervous system, and that its activity is intensified by sympathetic and diminished by parasympathetic stimuli [1, 3, 4, 5, 11, 12]. Further experiments were made to observe the effect of acute and prolonged sleep. It was found that cortical inhibitors enhance the activity of the liver's RES, a phenomenon probably due to the liberation of the subcortical centres. The activity of the RES is thus intensified by soporifics that act mainly upon the cortex, irrespective of whether their application is acute or prolonged, and the same effect is also obtained by

prefrontal leucotomy. Subcortically active soporifics on the other hand, such as Sevenal, reduce the activity of the RES if administered in single doses, while leaving it unaffected if prolonged sleep is induced. Mortality becomes higher in the latter case, probably because of the existing pharmacotoxic injury which a normally functioning RES is unable to antagonize. However, a Sevenal-like effect was obtained in other experiments with cortical soporifics also, where the sleep was deepened by administering the drug in several portions [6].

Additional experiments served to ascertain the influence of the neurohormonal system upon the RES : the effect of adrenal hormones and insulin was investigated in the first line. The storing capacity of the liver was found to be inversely proportional to the height of insulin doses introduced into the organism. The reduction of the said capacity as induced by insulin is independent of the blood-sugar level. With the frontal cortex isolated, insulin is no longer capable of such action, a phenomenon which shows that it is not on the RES-cells that insulin exerts a direct effect : it is rather by exciting the cortex that the drug inhibits the functioning of the RES.

The power of the liver to accumulate silver is also strongly reduced if the adrenal gland is extirpated. Although adrenalin increases the silver-storing capacity of rats devoid of suprarenal gland, the hormone in question does not suffice to compensate the said reduction. Desoxycorticosterone acetate (in the following "DOCA"), on the other hand, affords full compensation, and a normal level of storage is obtained by its administration. Removal of the adrenals destroys the action of the central nervous system favourable to storage.

The fact that DOCA stimulates storage by the RES if administered in normal doses and reduces it if given in excessive quantities, further the observation made in our experiments and confirmed by other authors that the absence of testes or ovaries, as well as of the thyroid gland, inhibit silver accumulation, justify the conclusion that a well-balanced neurohormonal apparatus is necessary for the maintenance of a normal level of storage [7, 8].

It was now felt necessary to ascertain — and it was with this end in view that the present experiments were begun — whether the conclusions drawn from the above-described earlier investigations were correct, whether it is really justified to speak of cortical, sympathetic and parasympathetic influences as affecting silver storage. The effect of medicaments is more or less known ; the action of any medicine manifests itself in every area of the central nervous system, to a greater extent here and to a lesser one there. Yet, essentially, only such effects need be regarded as being of consequence as are exercised upon special areas, upon centres. However, a clear and satisfactory picture can only be obtained by injuring certain predetermined areas of the brain and evaluating the cessation of corresponding functions on the one hand, and the symptoms of stimulation so induced, on the other.

### Methods

Out of a total of 50 white rats used for the present experiments 9 perished prematurely, and the data regarding 33 of the remaining 41 animals are listed in the annexed tables. A HORSLEY-CLARK apparatus served to inflict injuries in various areas of the brain. Colloidal silver was injected through the femoral vein of the animals on the 16th to 18th day after operation. Bleeding them to death 2 hours after the injection, their liver and brain were removed. The livers were subjected to a treatment according to Törö-Velösy's method, i. e. destroyed by means of sulfuric and nitric acid, and their silver contents determined with the aid of dithizone. As regards the brains, serial sections were prepared from the affected areas and used for the necessary evaluations.

### Experimental

The experimental injuries were performed in the tuberal, mammillary and paraventricular regions; in many cases also the ventral nucleus of the thalamus was injured. Tables 1 and 2 show the site of the injuries and the corresponding storage-values. The lesions were histologically examined. The control animals were found to have accumulated 78% of the amount of silver injected, with an average tolerance of  $\pm 3,5\%$ .

Table 1

Serial number of animal	Percentage of storage	Hypothalamus uninjured	Lesion of nucl. ventr. thalami	Lesion of nucl. med. thalami	Dorsal lesion of paraventric. on one side	Dorsal lesion of paraventric. on both sides	Total lesion of paraventric. on one side	Total lesion of paraventric. on both sides
1	99,0	+	+	—	—	—	—	—
2	64,0	—	+	—	—	+	—	—
3	71,0	—	+	—	—	+	—	—
4	69,5	—	+	—	—	+	—	—
5	69,5	+	+	—	—	—	—	—
6	92,0	+	+	—	—	—	—	—
7	92,0	+	+	—	—	—	—	—
8	92,0	+	+	—	—	—	—	—
9	92,0	—	—	—	—	—	—	+
12	71,0	—	+	—	—	+	—	—
13	72,0	—	—	+	+	—	+	—
14	71,0	+	+	—	—	—	+	—
15	79,0	+	—	—	—	—	—	—
16	87,5	—	+	+	—	+	—	—
17	90,5	—	—	—	—	—	—	—
18	71,0	—	+	—	+	—	—	—
19	99,0	+	+	+	—	—	—	—

Table 2

Serial number of animal	Percentage of storage	Lesion of nucl. dorsomed. on one side	Same on both sides	Lesion of nucl. ventromed. on one side	Same on both sides	Lesion of premaxillary area	Lesion of mammill. nucl. med. on one side	Same on both sides	Lesion of nucl. arcuatus
20	81,5	—	+	—	+	+	+	—	—
21	81,5	—	+	—	+	—	—	—	—
22	83,5	—	+	—	+	—	—	—	+
23	76,0	—	+	—	+	—	+	—	—
24	78,5	—	+	—	+	+	—	—	+
25	84,5	—	—	+	—	—	—	—	+
26	78,0	—	+	—	+	—	—	+	—
27	78,5	—	+	—	—	+	—	—	—
28	86,5	—	+	—	+	+	—	—	+
29	81,5	—	+	—	—	—	—	—	—
30	74,0	+	—	—	+	+	—	+	—
31	75,0	—	+	—	+	+	—	+	+
32	81,0	—	+	—	—	+	—	+	—
33	87,5	—	+	—	+	+	—	+	—

### Discussion

As has been pointed out in the introductory part of this paper, it was by means of pharmacological treatments and surgical transactions that the conclusion was reached in our earlier experiments that the capacity of the RES of the liver to accumulate and store silver is diminished by the parasympathetic and stimulated by the sympathetic system. The figures of the annexed tables serve to show how far this conclusion has stood the test of investigations based on the HORSLEY-CLARK method. It appears from Table 1 that there are cases, Nos. 9 and 17 for instance, where the injury was strictly local and destroyed nothing but the paraventricular nucleus. The value of storage shows a considerable upward jump in both cases. The paraventricular nucleus is a member of the ventral group of nuclei of the hypothalamus which have been described as possessing parasympathetic characteristics [9]. The majority of the authors agree that an irritation of this region provokes bladder contraction, intensified intestinal peristalsis [2], vasodilatation, and a slowing-down of the heart's action [13], so that — as is stated in the comprehensive work of HESS [10] — the region in question has to be regarded as belonging to the parasympathetic system. The paraventricular nucleus occupies a prominent place among the nuclei situated in this region.

The value of storage shows a considerable reduction in those cases (Nos. 2, 3, 4, 12, 18) where either only one of the paraventricular nuclei was destroyed

or, if the nuclei of both sides were injured, the injury did not affect but their dorsal part. A similar reduction of storing capacity occurred in those cases (Nos. 13, 14) where one of the paraventriculars was destroyed while that on the other side was injured on the dorsal and remained unimpaired on the ventral part.

It seems that the cicatrization and sterile inflammation which can be verified histologically and are consequent upon injuries that affect a part of the nucleus without destroying it in toto maintain a prolonged nuclear irritation.

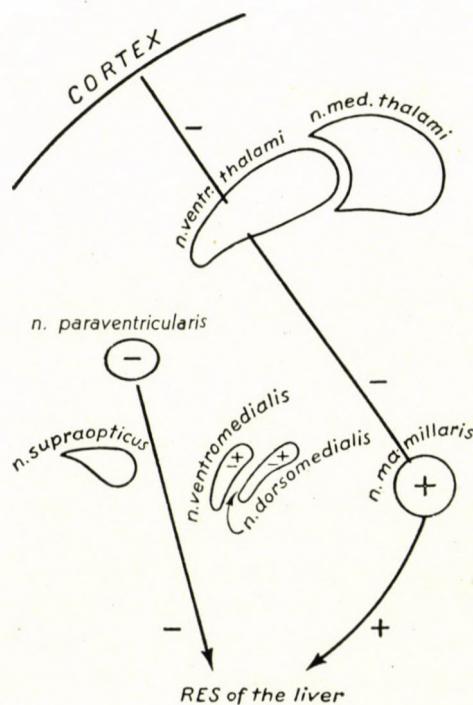


Fig. 1

It is clear from the above that the elimination of the paraventricular nuclei, a parasympathetic deficiency, provokes an increase of storage, while their irritation, a parasympathetic stimulus, leads to a considerable reduction of the power to accumulate silver.

Injuries inflicted upon the tuberal region gave no positive results: storage-values remained more or less normal and showed no perceptible deviation from the control-value. The experiments led to the conclusion that the dorsomedial and ventromedial nuclei do in no way influence the reticuloendothelial system.

In no case did we succeed in achieving a total lesion of the mammillary group of nuclei alone. It was obvious in any case that injuries affecting single

nuclei of this group (nucleus mamillaris medialis, lateralis, praemamillaris) do not provoke symptoms of excitation or paryses.

The situation is entirely different if also the cortical connections are taken into account. In some of our cases (Nos. 6, 7, 8, 19), where the injury did not affect the hypothalamus but destroyed the ventral nucleus of the thalamus, storage increased considerably; unilateral lesions had no effect.

It is known (INGRAM) that the ventral nucleus of the thalamus serves as a synapse for the communication of the fibres from the cortex to the mammillary body. The fibres come from the cingulate gyrus and continue their path in the mammillothalamic bundle. The disturbance of this communication on any level produces the reaction known as sham rage which is due to the liberation of the dorsal hypothalamic group of nuclei. We provoked sham rage in our earlier experiments by leucotomy, and it increased the storing capacity to a notable extent.

By way of indirect conclusion it can be therefore stated that any irritation of the mammillary nucleus group is followed by an increased power of storage, provided no inhibition from the cortex counter-acts it. Since the said mammillary group belongs to the sympathetic system, the present experiments may be regarded as an additional proof of the correctness of our earlier conclusions regarding sympathetic stimuli (Fig. 1).

Our thanks are due to DR. BÉLA MESS and DR. BÉLA HALÁSZ, assistants in the Pécs Anatomical Institute, who performed the injuries and made the histological evaluations.

#### LITERATURE

1. BARKA, T., AROS, B., TÖRÖ, I. (1951) Beiträge zur Biologie und Messung der Aktivität des RES in der Leber. *Acta Physiol. Hung.*, **2**, 121—162.
2. BEATTIE, J. (1938) Functional aspect of hypothalamus. Henderson.
3. BENETATO, OPRISIU, BACIU (1947) System nerveux et phagocytose. *Journ. de Physiol.*, **39**, 191—197.
4. CSABA, GY., NIEDERMANN, E., RAPPAY, GY. (1954) Adatok a RES-sejtek kiválasztásának kérdéséhez. Beiträge zur Frage der Ausscheidung der RES-Zellen. *Kísér. Orvostud.*, **6**, 54—59. (In Hungarian, German summary.)
5. CSABA, GY., RAPPAY, GY. (1954) Központi idegrendszer és RES. I. A máj RES idegrendszeri szabályozása. Zentralnervensystem und RES. I. *Magy. Belorr. Arch.* **7**, 89—92. (In Hungarian, German summary.)
6. CSABA, GY., RAPPAY, GY. (1955) Központi idegrendszer és RES. II. Akút és tartós altatás hatása a máj tárolására. Zentralnervensystem und RES. II. *Ideggýógy. Szemle*, **8**, 20—23. (In Hungarian, German summary.)
7. CSABA, GY., RAPPAY, GY., NIEDERMANN, E. (1955) Központi idegrendszer és RES. III. Adatok a máj-RES neurohormonalis szabályozásához. Zentralnervensystem und RES. III. *Ideggýógy. Szemle*, **8**, 46—48. (In Hungarian, German summary.)
8. CSABA, GY., RAPPAY, GY. (1955) Влияние центральной нервной системы на ретикуло-эндотелиальную систему печени. *Журн. общ. биол.*, **16**, 178—190.
9. FULTON, J. F. (1943) Physiology of the nervous system. Oxford Univ. Press, London.
10. HESS, L. P. (1932) The hypothalamus. *Lancet*, **2**, 1199—1201; 1259—1261.
11. LETTERER, E., BOGENDÖRFER (1929) Untersuchungen über den Einfluss des Nervensystems auf Speicherungsvorgänge am RES-System. *Arch. Exp. Path. Pharm.*, **145**, 131—139.
12. LETTERER, E., BOGENDÖRFER (1930) Untersuchungen über den Einfluss des Nervensystems auf Speicherungsvorgänge am RES-System. *Arch. Exp. Path. Pharm.*, **157**, 251—263.

13. RANSON, S. W., MAGOUN, H. W. (1939) The Hypothalamus. *Ergb. Physiol.*, **41**, 56—163.
14. TÖRÖ, I., BARKA, T., AROS, B., VELÖSY, Gy. (1951) Vizsgálatok a RES-sejtek morfológiájának és működésük méréséhez. Investigations about the question of the morphology and measure of function of the RES-cells. *Magyar Tud. Akad. Orv. Oszt. Közl.*, **2**, 111—130. (In Hungarian only.)
15. TÖRÖ, I., VELÖSY, Gy. (1950) A májban levő RES-sejtek tárolási fokának mérési módszere. Method for the determination of the storage function of the RES cells. *Kísér. Orvostud.*, **2**, 103—114. (In Hungarian, English summary.)

## НОВЫЕ ДАННЫЕ О РЕГУЛЯЦИИ РЕТИКУЛО-ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ ПЕЧЕНИ ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМОЙ

Регуляция ретикуло-эндотелиальной системы печени осуществляется по нижеследующему: кора и, следовательно, главным образом фронтальные области передают импульсы посредством центрального ядра бугра к сосковидной ядерной группе, и задерживают накопление. Прекращение задержки вызывает освобождение сосковидной ядерной группы и вместе с тем и повышение накопления.

Паравентрикулярное ядро, в качестве представителя парасимпатической нервной системы, задерживает накопление.

На основании результатов авторов нельзя говорить о каких-то мозговых центрах ретикуло-эндотелиальной системы, а лишь о том, что те же области головного мозга, которые обусловливают прочие симпатические и парасимпатические реакции, вызывают и соответствующие последним изменения в функции ретикуло-эндотелиальной системы.

## WEITERE ERGEBNISSE BETREFFEND DIE REGULATION DES LEBER-RES DURCH DAS ZENTRALE NERVENSYSTEM

Die Regulation des Leber-RES erfolgt folgendermassen: die Impulse die vom Cortex und so besonders von den frontalen Gebieten durch den Nucleus ventralis thalami zur mamillaren Kerngruppe gelangen, hemmen die Speicherung. Die Ausschaltung der Hemmung zusammen mit der Reizung des mamillären Kernes bewirkt eine Zunahme der Speicherung.

Der paraventrikuläre Kern hindert als Repräsentant des Parasympathicus die Speicherung.

Aus unseren Experimenten können wir nicht folgern, dass das RES irgendwelche Zentren im Gehirn besitzen würde, aber wir fanden, dass alle jene Gebiete, die die sonstigen sympathischen und parasympathischen Wirkungen zustande bringen, diesen entsprechende Reaktionen auch in der Tätigkeit des RES bewirken.

GYÖRGY CSABA, Budapest, IX., Tűzoltó u. 58., Hungary.

GYÖRGY RAPPAY, Budapest, IX., Tűzoltó u. 58., Hungary.



# UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE REGENERATION UND HISTOLOGIE VON *HELIX POMATIA*

J. BIERBAUER

INSTITUT FÜR ALLGEMEINE ZOOLOGIE DER EÖTVÖS LORÁND UNIVERSITÄT, BUDAPEST  
(VORSTAND: G. MÖDLINGER)

(Eingegangen am 22. August 1956)

## Zusammenfassung

Bei *Helix pomatia* regeneriert der exstirpierte Oberkiefer während 12—16 Wochen vollkommen. Morphologisch unterscheidet sich aber das Regenerat auf charakteristische Weise, indem es keine Querleisten besitzt. Die zur Regeneration notwendigen Stoffe werden von dem unter dem Oberkiefer liegenden Epithel respektive Drüseneipithel sezerniert, in welchem während seiner Tätigkeit zweierlei Zellarten unterschieden werden können: nur selten vorkommende Becherzellen und zylinderförmige Drüsenzellen. Ihrer Funktion nach gehören die ersteren zum merokrinen, die letzteren zum ekkrinen Typus. Die zylinderförmigen Drüsenzellen produzieren die Chitinschichten. In den Becher- und Zylinderzellen konnte gelöstes Calcium gut nachgewiesen werden, das an Calcium gebundene Phosphat und Carbonat aber nicht. Die Regeneration nimmt vor der Bildung des Epiphragmas — also im Sommer, Frühjahr und frühen Herbst — viel kürzere Zeit in Anspruch, als im Winter — nach der Bildung des Epiphragmas. Im Mantelwulst der Winterschnecken, besonders im Zylinderepithel, aber auch im Bindegewebe gelang der Nachweis vom gelösten Calcium sehr gut. Im Fusse der Winterschnecke, besonders im Epithel, aber auch im Binde- und Muskelgewebe können grössere Mengen von gelöstem Calcium nachgewiesen werden. Der Nachweis von an Calcium gebundenem Phosphat und Carbonat gelang nicht.

Bei den histochemischen und quantitativen Untersuchungen im Winter an Tieren (*Helix pomatia*) mit regenerierter Schale und normalen Kontrolltieren fanden wir nie bedeutende Unterschiede im Gehalt oder der Lokalisation des Calciums im Mantelwulst, im Mantel, in der Mitteldarmdrüse und im Fuss. Dies gilt als Beweis, dass die Schnecke das zur Schalenregeneration notwendige Calcium nicht aus den Depots des Körpers entnimmt, sondern wahrscheinlich aus der Nahrung bereitstellt. Die Regeneration der Schale kann mit Calciumgaben beschleunigt werden, Vitamin A und D<sub>2</sub> haben aber keine Wirkung auf die Regeneration der Schale. Der Vergleich von *Helix pomatia* mit regeneriertem Fuss mit Kontrolltieren zeigt, dass betreffend des Epithels keine Unterschiede bestehen, aber im regenerierten Fuss nur weniger Muskelbündel zu finden sind.

## Einleitung

Schon seit langem werden Forschungen zur Untersuchung der Regeneration bei Mollusken unternommen, so zum Beispiel von MORGAN [7], HANKÓ [4], ROTARIDES [8] und WAGGE [11]. Diese Untersuchungen beschäftigen sich mit der Regeneration der Schale, des Fusses, der Tentakel, der Augen. Sie sind aber meistens rein morphologischer Natur, histologische und histochemische Untersuchungen können in der Literatur nur selten gefunden werden. Als Objekt der eigenen Experimente wurde *Helix pomatia* gewählt und drei Fragen untersucht: Regeneration des Oberkiefers und der Schale, und im Zusammenhange damit wurden die mit ihnen in engster Beziehung stehenden Organe — der

Mantelwulst, die Mitteldarmdrüse und der Fuss — histologisch und histochemisch untersucht. Endlich untersuchten wir die Histologie des regenerierten Fusses. In Verbindung mit diesen Experimenten beobachteten wir das Vorkommen des Calciums in den erwähnten Organen und die Wirkung verschiedener Vitamine auf die Regeneration der Schale.

#### Methoden

Im Verlaufe der Experimente wurden Exstirpation des Oberkiefers, Entfernung von bestimmten Teilen der Schale, histologische, histochemische und quantitativ-chemische Untersuchungen durchgeführt.

Die Entfernung des Oberkiefers gelang mit einer relativ einfachen Technik. Das ausgestreckte Tier wurde mit einer stumpfen Pincette hinter dem Kopf vorsichtig angefasst und in dieser Stellung kann der Oberkiefer mit einer feinen Pinzette leicht herausgehoben werden, ohne dass die angrenzenden Gewebe grösseren Schaden nehmen würden.

Das zur weiteren Untersuchung notwendige Material wurde mit 60%igem Alcohol fixiert und 3—4 Wochen im Diaphanol gehalten um es schneiden zu können. In der Folge wurde es nach der doppelten Einbettungsmethode von PÉTERFI in Celloidin-Paraffin eingebettet und schliesslich wurden 5  $\mu$  dicke Schnitte angefertigt. Trotz der Enthärtung waren die Objekte härter als auf ähnliche Weise fixierte und behandelte andere Organe.

Zu Beginn der Regeneration, als die Chitinschicht noch dünn war, wurde das Material in Susa fixiert und nach Celloidin-Paraffin-Einbettung 5  $\mu$  dick geschnitten ähnlich wie andere histologische Präparate. Zur Färbung diente Eisen-Haematoxylin-Eosin nach WEIGERT. Zur Feststellung feinerer Strukturen wurden längs und quer verlaufende Schnittserien hergestellt. Beim histochemischen Nachweis von Calcium wurde das gelöste Calcium mit der Gipsreaktion, mit Purpurin und Alizarin S, das an Calcium gebundene Phosphat und Carbonat mit der Silberimpregnations-Methode nach KOSSA untersucht. Das Calcium wurde mit Salzsäure aus den Geweben entfernt und die Bestimmung der Menge des Calciums in der Lösung erfolgte mit dem Zeiss'schen Flammenphotometer im Tierphysiologischen Institut der landwirtschaftlichen Universität. Calcium und Vitamine wurden mit gewöhnlichen Spritzen subcutan injiziert.

Der entfernte Teil der Schale d. h. die Fläche der Regeneration war in allen Versuchen gleich gross. Es wurde von der Apertur nach oben rund  $\frac{1}{4}$  der Schale entfernt d.h. im Grunde genommen eine Fläche, die der ganzen Manteloberfläche entspricht.

Ca, Vitamine A und D<sub>2</sub> wurden zusammen folgenderweise dosiert:\*

Calcium phosphoricum	2 mg/g Körpergewicht
Calcium lacticum	4 „ „ „
Vitamin A	5 IE „ „ „
Vitamin D <sub>2</sub>	7,5 IE „ „ „

\* Präparat »Caldea« der Firma Egyesült Gyógyszer- és Tápszergyár in Budapest.

Ca allein wurde als Calcium gluconicum 10 mg/g Körpergewicht verabreicht.\* Vitamin A allein Dosis 30 IE/g Körpergewicht.\*\* Vitamin D<sub>2</sub> allein Dosis 4000 IE/g Körpergewicht.\*\*\*

### Die Regeneration des Oberkiefers

Die Literatur des Oberkiefers ist ziemlich spärlich. Die meisten Angaben fanden wir bei MEISENHEIMER [6] und HAFTNER [3]. Den Oberkiefer finden wir an der dorsalen Wand der buccalen Höhle resp. des vorderen Teiles des Schlundes. Das Organ selbst besteht aus Chitin und Kalksalzen und zeigt an der oralen Fläche Querleisten, an der Basis eine dünne Lamelle, die die Verbindung mit den umgrenzenden Geweben herstellt (Abb. 1).



Abb. 1. Oberkiefer von *Helix pomatia*. 2. Der regenerierende Oberkiefer am 12—16. Tag.  
3. Der vollkommen regenerierte Oberkiefer

Es gelang relativ leicht den Oberkiefer herauszuheben. Nach der Entfernung entwickelte sich am 12—16. Tag ein dünnes Chitinplättchen, das nur langsam an Dicke zunahm (Abb. 2). In der 10—12. Woche regenerierte der Oberkiefer vollkommen. Der regenerierte Oberkiefer unterschied sich morphologisch bedeutend vom ursprünglichen Oberkiefer, indem die sehr charakteristischen Querleisten auch nach 6 Monaten nicht zustande kamen (Abb. 3).

Die Regeneration des Oberkiefers beginnt aus den Geweben die unter ihm liegen. Da in der Literatur die genaue und detaillierte Beschreibung der Histologie des Oberkiefers nicht gefunden werden konnte, wurden mehrere Tiere auch histologisch untersucht.

An der basalen Fläche des Oberkiefers sitzt charakteristisches Bindegewebe mit glatten Muskelfasern. Darüber befindet sich ein einschichtiges Zylinderepithel. Die Kerne liegen in den basalen Teilen der Epithelzellen. Über dem Zylinderepithel zeigt das Chitin eine stark geschichtete Struktur (Abb. 4). Während der Regeneration konnten bedeutende Veränderungen am Zylinderepithel wahrgenommen werden. Die vorerst ruhenden Epithelzellen wurden aktiv und sezernierten. In dieser Phase können zwei verschiedene Zellarten

\* Präparat Calcimusc der Firma Richter Gyógyszergyár in Budapest.

\*\* Präparat Vitamin A der Firma Egyesült Gyógyszer- és Tápszergyár in Budapest.

\*\*\* Präparat D<sub>2</sub> der Firma Chinoim Gyógyszergyár in Budapest.

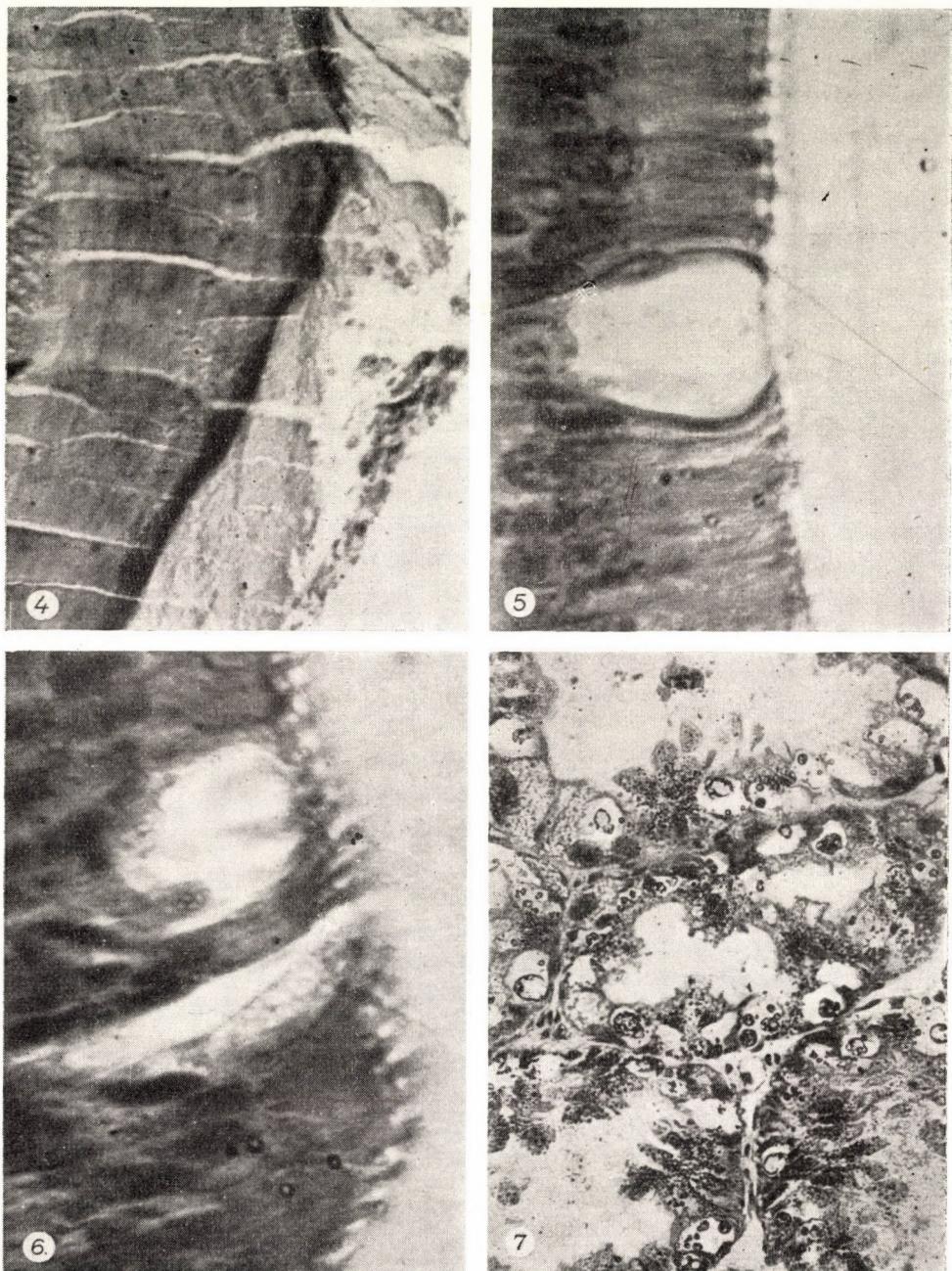


Abb. 4. Histologisches Bild des Oberkiefers (Querschnitt). Haematoxylin-Eosin. 5. Das histologische Bild des regenerierenden Oberkiefers am 12–16. Tage (Querschnitt). Haematoxylin-Eosin. 6. Das histologische Bild des regenerierenden Oberkiefers am 12–16. Tage. Ekkrine Drüsenepithelzellen und merokrine Becherzellen (Querschnitt). Haematoxylin-Eosin. 7. Das histologische Bild der Mitteldarmdrüse. Haematoxylin-Eosin

unterschieden werden. Die eine Zellart erinnert an die Becherzellen, ihr Kern liegt basal und im Plasma konnten dichtere Sekretgranula festgestellt werden. Die andere Zellart behielt die ursprüngliche Form, sah also ähnlich aus als die Zylinderepithelzellen mit basalem Kern und einem Plasma, das homogen erschien. Im Verlaufe der histologischen Untersuchungen konnte festgestellt werden, dass an der Produktion des Chitinblockes des Oberkiefers beide Zellarten teilnehmen können. Die nur selten vorkommenden Becherzellen geben ihr Sekret an die Oberfläche ab, fallen zusammen und nehmen eine fadenförmige Gestalt an. Die zylinderepithelförmigen Drüsenzellen ändern ihre Gestalt auch in der Arbeitsphase nicht. Das Sekret gelangt an die Oberfläche durch einen Riss der Zellmembran und breitet sich nachher auf der Oberfläche aus. Beide Arten von Drüsenzellen sezernieren also, aber die ersten gehören zum merokrinen, die letzteren zum ekkrienen Typus. Die basalen Drüsenzellen, die bei der Regeneration eine bedeutende Rolle spielen, können annähernd mit der Hypodermis oder Matrix, die die Chitinkutikula der Insekten herstellten, verglichen werden (Abb. 5 und 6).

Nach Beginn der Regeneration entstand in etwa 12 Tagen ein mehrschichtiger Chitinsaum, bei dessen Herstellung das aktivierte Drüsenepithel wahrscheinlich mit seiner maximalen Funktion teilnahm. Es stellt sich aber die Frage, welcher Unterschied zwischen den produzierten Stoffen der beiden Zellarten vorliegt. Der Oberkiefer besteht hauptsächlich aus Chitin und nur in sehr geringer Menge aus Calcium. Deshalb nahmen wir an, dass im Verlaufe der Regeneration die Becherzellen wahrscheinlich Ca sezernieren. Diese Annahme scheint auch jener Befund zu bestätigen, wonach die erwähnten Becherzellen nur in sehr geringer Zahl zwischen den funktionellen Epithelzellen gefunden werden können.

Die in bedeutend grösserer Zahl vorkommenden zylinderförmigen Epithelzellen geben also aller Wahrscheinlichkeit nach die Grundsubstanz des Oberkiefers, das Chitin. Das abgeschiedene Sekret bildet eine dünne Lage, die sich an die vorangehende Chitinschicht bindet.

Die Anwesenheit von Calcium im Drüsengewebe des Oberkiefers wurde durch den Nachweis von monoklin-prismatischen Gipskristallen bewiesen. Mit Alizarin S konnte auch gelöstes Calcium im Sekret der Becherzellen nachgewiesen werden. Auch gelang es in der Epithelschicht und in geringerem Masse im Bindegewebe und Muskelgewebe gelöstes Calcium nachzuweisen. Aus diesen Untersuchungen kann gefolgt werden, dass das Calcium aus den Becherzellen in das von den zylinderförmigen Drüsenzellen sezernierte, noch flüssige Chitin abgegeben wird. Es darf auch angenommen werden, dass der funktionelle Unterschied zwischen Becher- und Drüsenzellen nicht in der Calciumproduktion, sondern im Sezernieren irgendeines anderen Stoffes besteht.

Es stellt sich auch die Frage, ob bei der normalen Schnecke in der Folge der Nahrungsaufnahme der Oberkiefer an der Oberfläche abgewetzt wird und wie der Organismus diese Abnützung ersetzt. Es kann angenommen werden,

dass die basale Epithelschicht in diesem Falle nur sehr schwach, oder nach einer gewissen Rythmik aktiv ist. Natürlich bedarf diese Hypothese noch weiterer Untersuchungen.

### Die Regeneration der Schale

Im Zusammenhange mit der Regeneration der Schneckenschale wurden äusserst interessante anatomische, morphologische, und zum Teil auch physiologische Untersuchungen durchgeführt von HANKÓ [4], KESSEL [5], FLÖSSNER [2], ROTARIDES [8], SIOLLI [9] und WAGGE [11]. Trotzdem schien es zweckmässig, im Zusammenhange mit verschiedenen Problemen der Regeneration noch weitere Untersuchungen durchzuführen.

Wir untersuchten die Regeneration in verschiedenen Jahreszeiten und waren besonders bedacht auf die Unterschiede in den Zeitpunkten vor und nach Bildung des Epiphragmas. Im Zusammenhange mit der Regeneration untersuchten wir die Calciumlokalisation im Mantelwulst, im Mantel, in der Mitteldarmdrüse und im Fuss und versuchten in den erwähnten Organen das gelöste Calcium oder das an Calcium gebundene Phosphat und Carbonat nachzuweisen.

Da die Intensität des Calciumstoffwechsels von der Jahreszeit beeinflusst wird, wurden in den Experimenten 4 Serien eingestellt. So wurden Beobachtungen gemacht im Frühling (April—Mai), im Sommer (Juni—Juli), im Herbst (September) und schliesslich im Winter (nach der Bildung des Epiphragmas).

Bei der Entfernung des Schalenteiles wurde der Mantel nicht beschädigt. Wie bekannt, bestehen sehr grosse Unterschiede in der Zeitdauer der Regeneration. Entsprechend dem Calciumstoffwechsel haben die Jahreszeiten einen bedeutenden Einfluss auf den Beginn der Regeneration resp. auf den Ablauf der Regeneration. Die Frühlings-, Sommer-, und Herbstschnecken, die noch vor dem Beginn der Experimente sich in der Natur frei ernähren konnten, zeigten in der Zeitdauer der Regeneration keinen Unterschied. Die Schalenteile regenerierten relative gleichmässig und ziemlich schnell. Im allgemeinen begann die Regeneration zwischen dem 2—4. Tag. Zu dieser Zeit erschien eine hauchdünne Schale, die bereits am 8. Tage die ganze nackte Fläche überdeckte.

Im Winter, nachdem die Bildung des Epiphragmas die Calciumreserven stark erschöpft, beginnt die Regeneration viel langsamer. Die Tiere wurden unter dem Schnee gesammelt, das Epiphragma vor dem Experiment künstlich entfernt. Der minimale Stoffwechsel der Winterruhe stieg nach dem künstlich erzielten Erwachen nur langsam an. Die Tiere ernährten sich erst sehr wenig, später aber ziemlich kräftig. Auf diese Weise konnten sie gewisse Calciummengen mit der Nahrung aufnehmen. Die Regeneration begann verglichen mit den Frühlingstieren sehr langsam, die Schale erschien am 8—10. Tage und bedeckte die ganze Oberfläche erst am 16—17. Tag (Abb. 8).

Der auffallende Unterschied im Zeitablauf der Regeneration bei den Winter-tieren und den Kontrolltieren, die in anderen Jahreszeiten untersucht wurden, könnte mit geringerer Intensität des Calciumstoffwechsels erklärt werden, da mit gutem Recht angenommen werden kann, dass die Mobilisierung des Calciums aus den Geweben nur viel langsamer zustande kommt als bei den Kontrolltieren. Die Regeneration der Wintertiere wird durch den Mangel an Calcium erschwert, da ja die Calciumreserven bei der Bildung des Epiphragmas stark in Anspruch genommen werden und bei der schwächeren Nahrungsaufnahme Calcium nur viel langsamer in den Organismus gelangt.

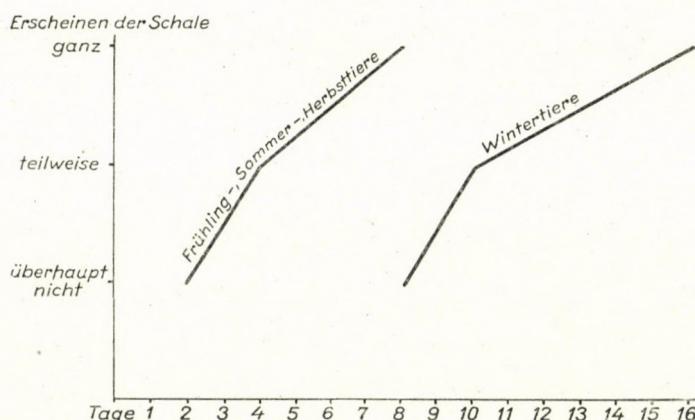


Abb. 8. Regeneration der Schale im Frühjahr, Sommer und Herbst vor der Bildung des Epiphragmas, und im Winter nach der Bildung des Epiphragmas

Beim Bau und bei der Regeneration der Schale spielen die Kalkzellen im Mantelwulst eine wichtige Rolle. Auch in den eigenen Versuchen konnte festgestellt werden, dass in mit Haematoxylin-Eosin gefärbten Schnitten in den aus der Literatur wohlbekannten einzelligen Kalkdrüsen kleinere oder grössere Kalkkörnchen gefunden werden können. Wir versuchten deshalb im Mantelwulst Calcium mit histochemischen Methoden nachzuweisen. Mit der Gipsreaktion konnten sehr viele Gipskristalle festgestellt werden. Mit Purpurin und besonders mit Alizarin S konnte das gelöste Calcium sehr gut nachgewiesen werden. Im einschichtigen Zylinderepithel der Oberfläche des Mantelwulstes konnten wir viel, im Muskel- und Bindegewebe nur wenig gelöstes Calcium beobachten. Mit der Silberimprägnationsmethode nach Kossa gelang der Nachweis von an Calcium gebundenem Karbonat und Phosphat nicht.

Mit den histologischen und histochemischen Untersuchungen des Mantelwulstes fanden wir keinen Unterschied zwischen Tieren mit regenerierter Schale und Kontrolltieren in Bezug auf die Lokalisation des Calciums. Weder in den Calciumkörnchen der Kalkzellen, noch im gelösten Calcium des Epithels, Binde-

und Muskelgewebes besteht irgendein Unterschied zwischen Regenerierten und Kontrolltieren.

Aus diesen Experimenten lässt sich der Schluss ziehen, dass das zur Regeneration notwendige Calcium aus einem anderen Organ stammt, oder nur vorübergehend im Mantelwulst gefunden werden kann. Deshalb wurde zur weiteren Erforschung der Regeneration und der Calciumlokalisation auch die Mitteldarmdrüse untersucht.

Nach Literaturangaben sollen in den sogenannten Kalkzellen der Mitteldarmdrüse bedeutende Mengen von Calcium gespeichert sein. Dieses Calcium bindet Phosphat und daraus bildet sich das Epiphragma. Deshalb darf angenommen werden, dass das in der Mitteldarmdrüse gespeicherte Calcium auch bei der Schalenregeneration eine Rolle spielen könnte. Nach WAGGE [11] treten an der Stelle der Verletzung teils Flüssigkeit, teils Amoebocyten aus und gleichzeitig ist ein Ansteigen der alkalischen Phosphatase in der Mitteldarmdrüse nachweisbar. Amoebocyten sezernieren an der Stelle der Verletzung zunächst eine dünne organische Membran, die später — ebenfalls unter ihrer Mitwirkung — vom Rande der Wunde aus verkalkt.

Die Amoebocyten nehmen das notwendige Calcium und Protein aus dem Blute und von den Speicherorten (Mitteldarmdrüse). Bis 1953 wurden im Zusammenhang mit der Histologie der Mitteldarmdrüse viele sich wiedersprechende Auffassungen entwickelt. Die Untersuchungen von THIELE [10] widerlegten alle bisherigen Auffassungen. Seiner Ansicht nach gibt es in der Mitteldarmdrüse nur Sekretions-Resorptions-Zellen und Kalkzellen. Unter den Kalkzellen unterscheidet THIELE Zellen zweiten und dritten Stadiums, und seiner Ansicht nach entwickeln sich beide Zellarten (die Sekretions-Resorptionszellen und die Kalkzellen) aus den sogenannten indifferenten Zellen (Abb. 7).

Die Untersuchungen THIELES betreffend die Mitteldarmdrüse scheinen genügend bewiesen zu sein. Trotzdem schien es zweckmäßig zur Lokalisation des Calciums histochemische Untersuchungen durchzuführen. Die Anwesenheit von Calcium in der Mitteldarmdrüse bestätigen die vielen monoklin prismatischen Kristalle, die nach Gipsreaktion in der Mitteldarmdrüse gefunden werden.

Gelöstes Calcium konnte mit Alizarin S im Plasma der Kalkzellen gut nachgewiesen werden und gab auch in den Sekretions-Resorptionszellen eine intensive Reaktion. Mit der Methode von KOSSA konnten bedeutende Mengen von an Calcium gebundenem Phosphat in den Kalkzellen nachgewiesen werden. Mit derselben Methode konnte in den Sekretions-Resorptionszellen kein an Calcium gebundenes Phosphat und Carbonat nachgewiesen werden. Nach THIELE zeigen die Körnchen in den Kalkzellen des dritten Stadiums, mit Alizarin S gefärbt, kein Calcium. Mit der KOSSA-Methode konnte auch kein an Calcium gebundenes Phosphat nachgewiesen werden. Deshalb schliessen wir uns THIELE an und meinen, dass hier Calcium und Phosphat an Eiweiss gebunden sind.

Bei den Schnecken mit regenerierter Schale und den Kontrolltieren konnte gelöstes Calcium in den Sekretions-Resorptionszellen und den Kalkzellen, an Calcium gebundenes Phosphat und Carbonat in den Kalkzellen nachgewiesen werden. Unterschiede in der Lokalisation konnten nicht festgestellt werden. Zur Feststellung der Zusammenhänge zwischen Menge des Calciums in der Mitteldarmdrüse und Regeneration sind weitere, genauere Untersuchungen notwendig.

Mit den vorausgehend beschriebenen histochemischen Methoden wurde auch der Fuss von Tieren mit regenerierter Schale und Kontrolltieren betreffend die Lokalisation von Calcium untersucht. Die Gipsreaktion bestätigte die Anwesenheit von Calcium. Mit Alizarin S konnte das gelöste Calcium sehr gut nachgewiesen werden im oberflächlichen Zylinderepithel, aber auch im Binde- und Muskelgewebe. Mit der Methode von Kossa konnte an Calcium gebundenes Phosphat und Carbonat in den Geweben des Fusses überhaupt nicht nachgewiesen werden. Betreffend der Lokalisation des gelösten Calciums besteht kein Unterschied zwischen den Tieren mit regenerierter Schale und den Kontrolltieren.

Aus den Experimenten mit den Winterschnecken zeigt sich also, dass mit den angewandten histologischen und histochemischen Methoden nicht nachgewiesen werden konnte, ob das erwartete Abnehmen des gespeicherten Calciums im Mantelwulst, in der Mitteldarmdrüse und im Fuss wirklich eintritt. Es könnte natürlich angenommen werden, dass eventuell nur die Konzentration des Calciums abnimmt, zu dessen Feststellung aber feinere Methoden notwendig sind als die Angewandten. Deshalb wurde es notwendig, quantitative Calciumuntersuchungen durchzuführen bei regenerierten und Kontrolltieren im Mantelwulst, im Mantel, in der Mitteldarmdrüse und im Fuss. Die quantitativen Untersuchungen gaben den histochemischen Untersuchungen entsprechende Resultate. Für Calcium wurden folgende Werte nachgewiesen: im Mantel 4,12—7,70 mg%, in der Mitteldarmdrüse 5,68—16,88 mg%, im Fuss 4,22—6,75 mg% [1]. Regenerte und Kontrolltiere zeigten gleiche Werte. Infolge der Regeneration nahm also Calcium in den Geweben quantitative nicht ab. Danach könnte auch jene Auffassung als bestätigt betrachtet werden, nach der das zur Regeneration der Schale notwendige Calcium nicht aus den erwähnten Organen stammt, dieses also nur aus der Nahrung zur Regeneration verwendet wird. Die Untersuchungen von WAGGE bestätigen meine Befunde, da nach ihm eine Regeneration nur dann erfolgt, wenn die Tiere sich ernähren. Hungertiere regenerieren nicht, aber schon Filterpapier genügt als Nahrung.

Es wurden auch Versuche eingestellt zur Feststellung des Einflusses von Calcium-Gaben auf die Regeneration, weiterhin die Wirkung des Vitamins D<sub>2</sub>, das einen Einfluss auf den Kalkstoffwechsel ausübt und Vitamin A, das einen Einfluss auf die Regeneration ausübt.

Im ersten Versuch wurden Calcium, Vitamin D<sub>2</sub> und A gleichzeitig verabreicht. Die Regeneration begann hier im Vergleich mit den Kontrolltieren viel früher. Schon am Ende des ersten Tages erschien stellenweise eine dünne Schale.

Die ganze Wundfläche wurde am 5. Tag bedeckt. Einen gleichen zeitlichen Verlauf der Regeneration zeigten auch solche Tiere, die nur Calcium allein erhielten, während jene Tiere, die nur Vitamin D<sub>2</sub> oder A bekamen, bezüglich des

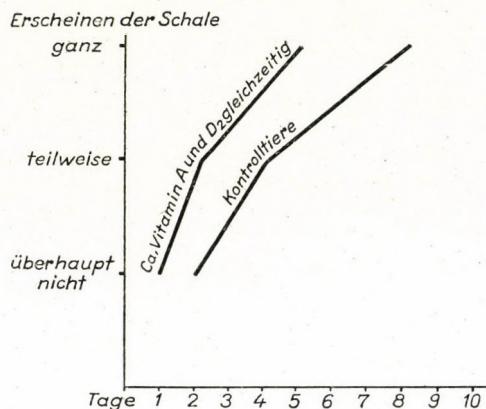


Abb. 9. Wirkung von Ca und Vitaminen A und D<sub>2</sub> auf die Regeneration der Schale

zeitlichen Ablaufes der Regeneration den Kontrolltieren entsprachen. Die Schale erschien nur teilweise am zweiten und vierten Tag und bedeckte die ganze Fläche erst am achten und zehnten Tag. Daraus darf geschlossen werden, dass

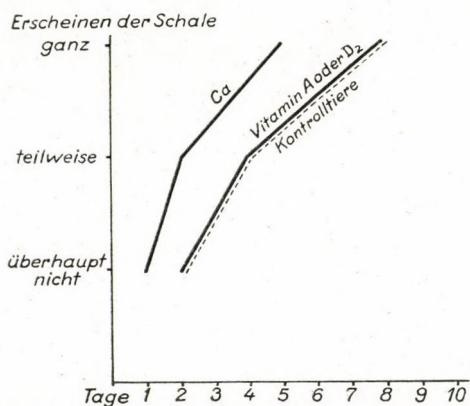


Abb. 10. Wirkung von Ca und Vitaminen A und D<sub>2</sub> getrennt verabreicht auf die Regeneration der Schale

bei der Regeneration der Schale von *Helix pomatia* Calcium eine vorherrschende Rolle spielt, während die Vitamine den Ablauf der Regeneration nicht besonders beeinflussen (Abb. 9 und 10).

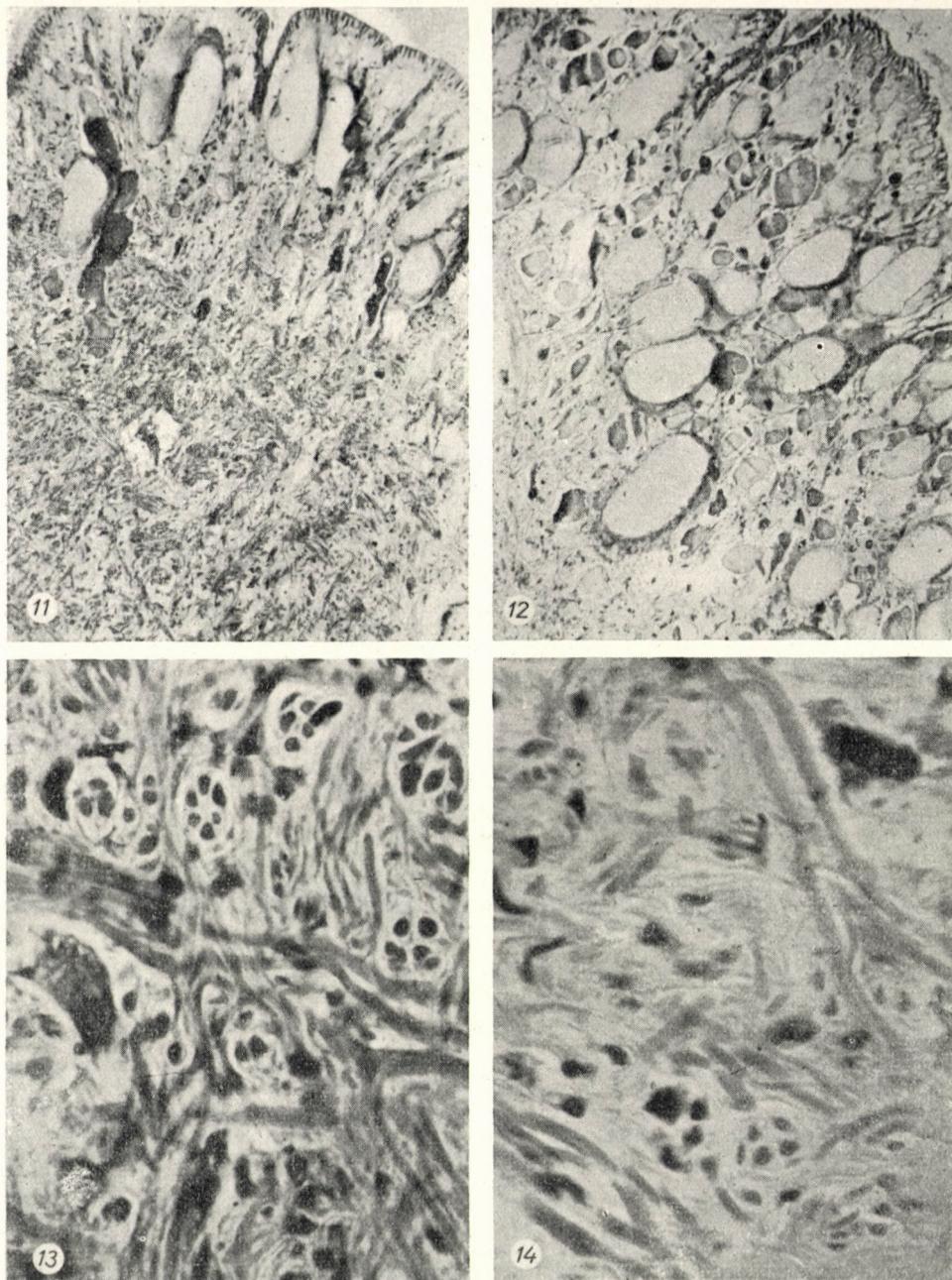


Abb. 11. Das histologische Bild des Fusses der zur Kontrolle verwendeten *Helix pomatia* (Querschnitt). Haematoxylin-Eosin. 12. Das histologische Bild des regenerierten Fusses von *Helix pomatia* (Querschnitt). Haematoxylin-Eosin. 13. Das histologische Bild des Fusses der zur Kontrolle verwendeten *Helix pomatia*. Das Muskelgewebe (Querschnitt). Haematoxylin-Eosin. 14. Das histologische Bild des regenerierten Fusses von *Helix pomatia*. Das Muskelgewebe (Querschnitt). Haematoxylin-Eosin

## Regeneration des Fusses

Das abgeschnittene Ende des Fusses regeneriert bei Schnecken. Diesbezügliche, sehr wertvolle, klassische Untersuchungen wurden von MORGAN [7] und HANKÓ [4] durchgeführt. Wir untersuchten vollkommen regenerierte, also neu ausgebildete Teile des Schneckenfusses, die auch morphologisch von den Kontrollen abwichen, da sie nicht pigmentiert waren.

Das histologische Bild des regenerierten Fusses zeigt charakteristische Übereinstimmung, aber zum Teil auch bedeutende Unterschiede, verglichen mit Kontrolltieren. Das Epithel im Bindegewebe regeneriert vollkommen. Die Unterschiede zeigen das Muskelgewebe. Im regenerierten Fuss sind nämlich viel weniger Muskelbündel als im Fuss von Kontrolltieren (Abb. 11—14).

## LITERATUR

1. DEXHEIMER, E. (1951) Beiträge zum Kalkstoffwechsel der Weinbergschnecke (*Helix pomatia*). *Zool. Jb. (Anat.)*, **63**, 129—152.
2. FLÖSSNER (1915) Die Schalenstruktur von *Helix pomatia*. *Z. wiss. Zool.*, **121**, 127—168.
3. HAFFNER, K. (1923) Über den Darmkanal von *Helix pomatia*. *Z. wiss. Zool.*, **121**, 127—168.
4. HANKÓ, B. (1914) *Nassa mutabilis* nevű csiga regenerálódó képességről és különböző szerveinek regenerációjáról. Über die Regenerationsfähigkeit der Schnecke *Nassa mutabilis* und die Regeneration ihrer Organe. *Math. Term.-tud. Ért.*, **32**, 165—223. (Ungarisch.)
5. KESSEL, E. (1936) Über den Bau der *Haliotis*-Schale. *Zool. Anz.*, **113**, 290—299.
6. MEISENHEIMER, J. (1912) Die Weinbergschnecke. Klinghardt, Leipzig.
7. MORGAN, T. H. (1909) Die Regeneration. Engelmann, Leipzig.
8. ROTARIDES, M., SCHLESCH, H. (1951) Regeneration of the shell and related phenomena in the family Clausiliidae. *Acta Biol. Hung.*, **2**, 55—117.
9. SIOLLI, H. (1935) Über den Chemismus der Reparatur von Schalendefekten bei *Helix pomatia*. *Zool. Jb. (Physiol.)*, **54**, 507—534.
10. THIELE, G. (1952) Vergleichende Untersuchungen über den Feinbau und die Funktion der Mitteldarmdrüse einheimischer Gastropoden. *Z. Zellforsch.*, **38**, 87—138.
11. WAGGE (1951) The activity of amoebocytes and of alcaline phosphatases during the regeneration of the shell in the snail, *Helix aspera*. *Quart. J. Micr. Sci.*, **92**, 307—321.

## ГИСТОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ И ИССЛЕДОВАНИЕ РЕГЕНЕРАЦИИ HELIX POMATIA

Автор, удалив нижнюю челюсть у *Helix pomatia*, наблюдал, что удаленная нижняя челюсть в течение 12—16 недель полностью возобновляется. Морфологически возобновленная нижняя челюсть резко отличается от первоначальной, так как не проявляются характерных поперечных планок. Вещество возобновляющейся челюсти производится помещенным под ней эпителием, вернее железистым эпителием, который во время действия показывает две формы клеток: наблюдаются редко встречающиеся чашеобразные клетки и цилиндрические железисто-эпителиальные клетки; первые действуют как мерокриптины, последние как экринные железы. Цилиндрические железисто-эпителиальные клетки производят хитин в слоистом виде. В чашеобразных клетках, как и в цилиндрических железисто-эпителиальных клетках хорошо можно выявить растворенный кальций, однако, связанных с кальцием фосфата и карбоната выявить нельзя. Летом, весной и ранней осенью, до образования эпифрагмы, продолжительность регенерации раковины значительно короче, чем зимой, после образования эпифрагмы. В кромке мантии зимних улиток, в частности в цилиндрическом эпителии, но и в соединительной ткани, хорошо можно выявить растворенный кальций. В ноге зимних улиток, главным образом в эпителиальной ткани, далее в соединительной и мышечной тканях, наблюдается большое коли-

чество растворенного кальция. В противоположность этому нельзя выявить связанных с кальцием фосфата и карбоната.

Согласно гистохимическим и количественным исследованиями, проведенными в зимний период над *Helix pomatia* с регенерированной раковиной и над контролями, в кромке мантии, в придатке средней кишки и в ноге, относительно локализации и количества кальция, ни в одном случае не проявлялись значительных отклонений. Этим доказывается, что животные необходимое для возобновления количество кальция берут не из депо организма, но по всей вероятности из пищи. Подачей кальция можно ускорить возобновление раковины, в то время как витамины  $D_2$  и A не имеют действия на регенерацию раковины. Возобновленная нога *Helix pomatia*, по сравнению с контролем, показывает совпадение в отношении эпителиальной ткани, в то время как в возобновленной ноге количество пучков мышц уменьшается.

#### INVESTIGATIONS INTO THE REGENERATION AND HISTOLOGY OF *HELIX POMATIA*

The removed jaw of *Helix pomatia* is completely regenerated after 12 to 16 weeks; the regenerated jaw is different from the original one, the morphological difference being sharply manifest through the absence of the otherwise characteristic cross bars. The substance of the regenerating jaw is produced by the epithelium, or glandular epithelium, beneath the jaw; during activity, the glandular epithelium displays two cell-forms: the rarely occurring merocrine cup cells and the exocrine columnar cells. The latter produce chitinous layers. While dissolved calcium is well demonstrable in both types, neither phosphates nor carbonates linked to calcium are traceable in either. The regeneration of the shell takes a considerably shorter time previous to the formation of the epiphram in the summer, spring and early autumn than after the development of the epiphram during hibernation. In winter snails, dissolved calcium is well demonstrable on the edge of the mantle, especially in the columnar epithelium, and also in the connective tissue. In these snails, a considerable amount of dissolved calcium is encountered in the leg, the epithelial tissue in particular, as also in the connective and muscle tissues. Phosphate or carbonate linked to calcium not demonstrable.

Comparisons between tests with shells regenerated during the winter season and controls, revealed no essential histochemical or quantitative differences with respect to localisation or amount of calcium in the edge of the mantle, the mantle, the mesenteric appendage or the leg. This seems to point to the fact that the amount of calcium required for the regeneration of the shell is not furnished by the depots of the animals organism but taken up with the nourishment. The process of shell regeneration may be accelerated by the administration of calcium, while neither  $D_2$  nor A vitamin have any effect on it. Comparing the regenerated leg of the *Helix pomatia* with the leg of the controls it was found that while they were similar regarding epithelial tissue, the number of muscular bundles was less in the test animals.

JÓZSEF BIERBAUER, Budapest, IX, Mester u. 33—35., Ungarn.



# GEWEBEZÜCHTUNG AN DER OBERFLÄCHE DES HÜHNEREIDOTTERS AUF DER DOTTERHAUT

J. JORDANOV

INSTITUT FÜR MORPHOLOGIE DER BULGARISCHEN AKADEMIE DER WISSENSCHAFTEN, SOFIA  
(VORSTAND: A. HADJIOLOV)

(Eingegangen am 15. September 1956)

## Zusammenfassung

Es wird eine einfache Methode der Gewebezüchtung an der Oberfläche des Hühnereidotters auf der Dotterhaut (membrana vitellina) beschrieben. Einige Hühnerembryonalgewebe, besonders Herzfibroblasten, aber auch Darm- und Leberepithelien, zeigten nach dieser Methode ein gutes Wachstum. Man beobachtete eine schwächere Proliferation bei den Mäuseherzfibroblasten und GUÉRINS Karzinomzellen der weissen Ratte.

Die Methode hat nicht die Vorteile der gewöhnlichen CARRELSchen Gewebekulturen besonders in Bezug auf die Möglichkeit einer vitalen Beobachtung, Passagieren und Dauerezüchtung. Sie ist aber von gesamtbiochemischem und zytologischem Interesse, da sie eigentlich eine Züchtung auf der Oberfläche der Eizelle auf ihrer Membran (zona pellucida) darstellt und damit zur Hilfe der Klärung wichtiger Probleme der Eizellenbiologie kommt. So fand man z. B., dass gewebewachstumsfördernde Substanzen noch im frischen, unbebrüteten Ei in einer oder anderer Form vorhanden sind.

Weitere Untersuchungen müssen zeigen, ob es sich bei dieser Methode um die Möglichkeit einer theoretisch permanenten Gewebezüchtung handelt.

## Einleitung

Die von CARREL in der experimentellen Biologie eingeführte Methode der Gewebezüchtung benutzt als Kulturmedium Plasma und embryonalen Gewebeextrakt. Letzterer, der die wachstumsfördernden Faktoren trägt, wird gewöhnlich von einem 7—10 Tage alten Hühnerembryo hergestellt. Man nimmt an, daß während dieser Bebrütungszeit die Embryonalgewebe in höchstem Grad die wachstumsfördernden Substanzen bilden. Eine nicht auf solche vorgefasste Vorstellung begründete Gedankenreihe würde sehr leicht zum Schluß führen, daß die Elemente des frischen unbebrüteten Vogeleiess, welche die Keimentwicklung bis zu fortgeschrittenen Stadien gewährleisten, unter bestimmten Bedingungen nicht nur als ernährendes, sondern auch als wachstumsförderndes Material der Gewebekulturen gebraucht werden könnten. SMITH, SWEZY, CARREL und EBELING [2, p. 20] hatten versucht, das Eialbumin als Komponente der Kulturmedien zu benutzen. Was den Dotter betrifft, ist bei den Gewebekulturen seine auf das Zellenwachstum hemmende Wirkung festgestellt [4, 8]. Diese Wirkung des Dotters wird durch seinen Reichtum an Lipoiden erklärt. Die von WRIGHT [8] erhaltenen Daten sind aber in anderer Hinsicht interessant. Dieser

Autor hat nachgewiesen, daß der Dialysat aus dem Dotter eines 7—8 Tage bebrüteten Hühnereies einen grossen wachstumsstimulierenden Effekt auf Herzfibroblasten ausübt.

In neuerer Zeit hat SPRATT [5] mit gutem Erfolg Hühnerblastoderm auf einer von Salzagar und Eiextrakt zusammengesetzten Mischung gezüchtet.

In der experimentellen Biologie und Medizin ist die Methode der Implantation (oder Transplantation) der Gewebe- und Organanlagen in die chorionallantoische Membran eines 8 Tage alten Hühnerembryos gut bekannt.

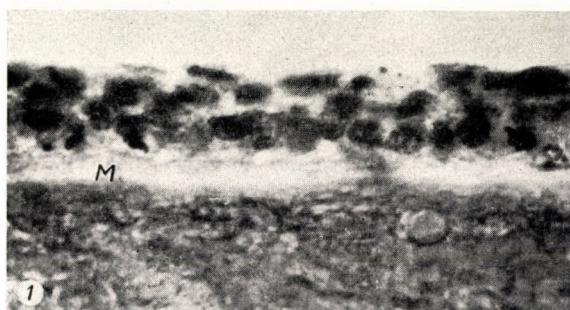


Abb. 1. Von unbebrütetem Hühnerei isolierte und auf animalen Pol eines unbefruchteten Eidotters transplantierte Keimscheibe, 24 Stunden nach Inkubation. M — Dotterhaut, oben — Transplantat, unten — Dotter. Fixation nach CARNOY, vertikale Paraffinschnitte mit Nuclearreaktion nach FEULGEN bearbeitet und mit Lichtgrün nachgefärbt. 480×

Die Methode, die hier beschrieben werden soll, hat in gewissem Sinne eine mittlere Stellung zwischen der Gewebezüchtung *in vitro* und der Gewebeimplantation in die chorionallantoische Membran; sie stellt eine Explantation (oder Implantation) der Gewebe an die Oberfläche des Eidotters (eigentlich der Eizelle) auf die Dotterhaut (eigentlich die Zellenmembran, *zona pellucida*) dar.

Seit 1951 arbeite ich zusammen mit GEORGIEV [3] über eigene Methoden der Implantation der vorher in permeablen Membranen umhüllten Gewebe. Zu diesem Zwecke wurde die zarte und durchsichtige, vom Hühnerei isolierte Dotterhaut gebraucht, bei welcher eine gute Permeabilität gegen gewisse Nährstoffe und wachstumsfördernde Substanzen festgestellt wurde.

Später wurde von mir eine vom frischen, noch nicht bebrüteten Ei isolierte Keimscheibe auf den Dotter eines anderen unbefruchteten Eies transplantiert. Nach 24ständigem Aufenthalt des Eies in dem Brutschrank fand ich ein vorwiegend histotypisches Wachstum der Keimscheibe an der Dotterhautoberfläche mit vielen, gewöhnlich basal angeordneten Mitosen (Abb. 1). Dann versuchte ich nach dieser Methode Gewebe von älteren Hühnerembryonen und Mäuseembryonen, Tumorzellen und Mikroorganismen, besonders Tuberkelbazillen, die dotterenthaltende Nährboden vorziehen, zu züchten.

### Technik

Man arbeitet am besten in einem Operationsraum mit sterilisierten Glaswaren und Instrumenten.

Das frische, befruchtete oder unbefruchtete Hühnerei wird mit Wasser und Seife gereinigt, mit 70% Alkohol zweimal desinfiziert und an der Flamme versengt. Die Kalkschale wird am spitzen Pol mit einer Pinzette geöffnet. Man lässt das Eiweiß abfließen und bringt den Eidotter in eine kleine Petrischale auf solche Weise, daß die Keimscheibe auf dem Schalenboden liegt und die vegetative Dotteroberfläche frei nach oben zugekehrt bleibt.



Abb. 2. Petrischale mit Dotter, Ring und Explantat

Die Explantation kann sehr leicht durchgeführt werden. Mit der Spitze eines Starmessers legt man einfach auf die Dotteroberfläche eins oder mehrere, in Tyrodelösung gewaschene, Gewebestückchen, in einer Größe von 1 mm. Die Petrischale wird mit dem Dotter und den Explantaten in eine feuchte Kammer gelegt. Diese stellt eine Glasdose dar, deren Wände mit genästtem Filterpapier bedeckt und der Deckel durch Paraffin oder besser durch Leukoplast hermetisch verschlossen ist. Die feuchte Kammer wird in den Brutschrank bei 38—39° hineingebracht.

Um jedoch ein sicheres Gelingen der Kulturen und die Möglichkeit ihres periodischen Waschens zu erzielen, wurde die folgende Technik ausgearbeitet:

Man setzt auf die freie Oberfläche des in der Petrischale isolierten Dotters einen Knochen- oder Glasring von 1,5—2 cm Durchmesser, der vorher in geschmolzene, warme Paraffin-Vaselinetemischung (3 : 1) getaucht worden ist. Nach Erstarren der letzten bleibt der Ring gut am Dotter angeheftet. Dann bringt man in den vom Ring umgebenen Raum auf die Dotterhaut 1—3 Gewebestückchen und tropft nach einigen Minuten 3—5 Tropfen Tyrodelösung darüber. Die Flüssigkeit soll die ganze Oberfläche um die Stückchen bedecken (Abb. 2).

Die Petrischale mit dem Dotter und den Explantaten wird in einer feuchten Kammer verschlossen und in den Brutschrank hineingebracht.

Das Waschen der Kulturen und das Wechseln der Tyrodelösung wird periodisch nach 3—4 Tagen vorgenommen: die feuchte Kammer wird geöffnet, die Flüssigkeit über den Kulturen abpipettiert, einige Tropfen Glukosol darüber getropft und nach 10—20 Minuten das Glukosol mit Tyrodelösung gewechselt.

Ein mikroskopisches Orientieren über die Breite der Wachstumszone der Kulturen kann nur in den späteren Tagen der Züchtung, bei seitlich fallendem Licht, durchgeführt werden. Die vitale Beobachtung der Kulturen unter dem Mikroskop wird nur in gewissem Grad erreicht, nachdem die vom Dotter in physiologischer Salzlösung ausgeschnittene und abgewaschene Dottermembran zusammen mit dem Explantaten auf einen Objektträger ausgebreitet wird. Eine echte Untersuchung gelingt nur an einem histologischen Präparat: der ganze Dotter wird in 10% Formol 1/2—1 Stunde fixiert, die von ihm im Wasser isolierte und gewaschene Dotterhaut total mit Haematoxylin gefärbt, auf einem Objektträger ausgebreitet, dehydriert und in Kanadabalsam eingeschlossen.

### Resultate

Es wurden Herz-, Leber- und Darmgewebe von 7—12tägigen Hühnerembryonen mit gutem Erfolg gezüchtet. Man hat die bei den gewöhnlichen Gewebe-Kulturen festgestellten morphologischen Gesetzmäßigkeiten im allgemeinen beobachtet. Selbstverständlich sind im Falle der Gewebezüchtung auf der Dotterhaut die Bedingungen eines zweidimensionalen Wachstums auf der Hand.

Besonders aktiv in ihrem Wachstum sind die Fibroblasten bzw. die Herzfibroblasten. Man bekommt 3—4 Tage nach dem ersten Waschen eine Wachstumszone von 5—6 mm im Durchmesser, nach dem zweiten — 10 mm (Abb. 3). Die Fibroblasten bilden ein Netz; die Zellen von der Zentralzone werden in den späteren Tagen nach Inkubation immer dichter, als ob sie hier die ganze Oberfläche der Dotterhaut zur Ernährung benutzen wollten und dadurch den Eindruck eines membranähnlichen Wachstums geben. Mitotische Figuren (Abb. 4) sind nicht nur in der Peripherie, sondern auch in der Zentralzone zu finden. Wenn die Kulturen nicht regelmäßig gewaschen werden, erscheinen zuerst in den Zellen von der Peripherie Fettdegenerationen.

Kontrollversuche mit Kulturen von Herzfibroblasten in Tyrodelösung auf isolierten ausgespannten Dotterhäuten zeigen ein unvergleichbar schwächeres Wachstum.

Das Epithelgewebe wächst in Form von Membranen (Abb. 5 und 6) oder dichten Zellensträngen.

Einzelne Versuche mit Gewebezüchten von Herzfibroblasten aus Säugerembryonen (weiße Mäuse) ergeben auch ein, wenn auch langsameres Wachstum

(Abb. 7). Eine gewisse Proliferation zeigte auch das GUÉRINS Karzinom der weißen Ratten (Abb. 8).

Es wurden einige Untersuchungen vorgenommen, die zur Klärung des Ernährungsmechanismus der auf dem Dotter gezüchteten Gewebekulturen näher bringen sollten.

Man verfolgte an vertikalen histologischen Paraffinschnitten die morphologischen Veränderungen des unter den Explantaten und der Dotterhaut liegenden Dotters und stellte die Merkmale einer Dotterverdauung — Dotterschollenzerfall und Dotterkörnervakuolisierung — fest (Abb. 9).

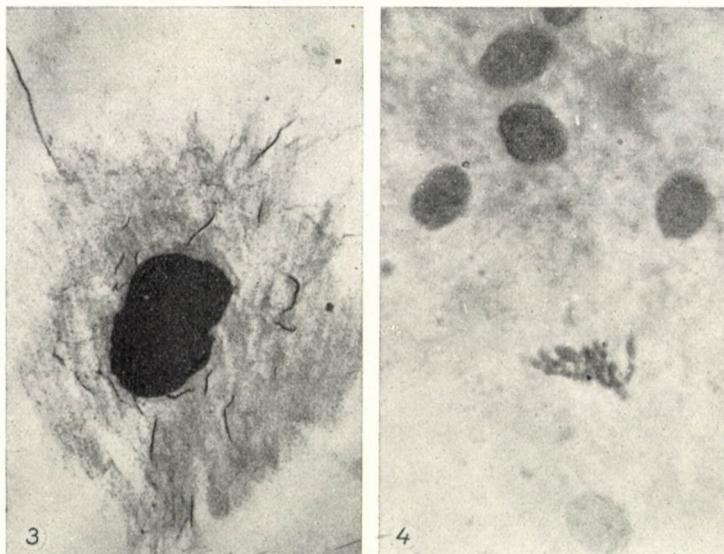


Abb. 3. Sieben Tage alte Kultur vom Herzen eines 9tägigen Hühnerembryos. Totalpräparat der isolierten und ausgebreiteten Dotterhaut. Fixation in Formol, Hämatoxylinfärbung. 20×.  
4. Dasselbe Präparat wie in Abb. 3, viel stärker (800×) vergrößert. Die Zellengrenzen sind fast unbemerkbar; man sieht eine Mitose

Weiter wurde ein Dialysat durch Eintauchen des ganzen, unversehrten Dotters in Tyrodelösung für eine Zeitdauer von 20—24 Stunden bei 39° C hergestellt. Der Dotter war vorher in physiologischer Salzlösung von Eiweiß abgewaschen. Es ergab sich, daß Herzfibroblasten in einem von solchem Dialysat und Hühnerplasma bestehenden Kulturmedium sichtbar besser wuchsen, als die Kontrollkulturen, die in Plasma und Tyrode angelegt wurden. Ein Passagieren der Experimentkulturen im Dotterdialysat-Plasma-Medium gelang jedoch nicht.

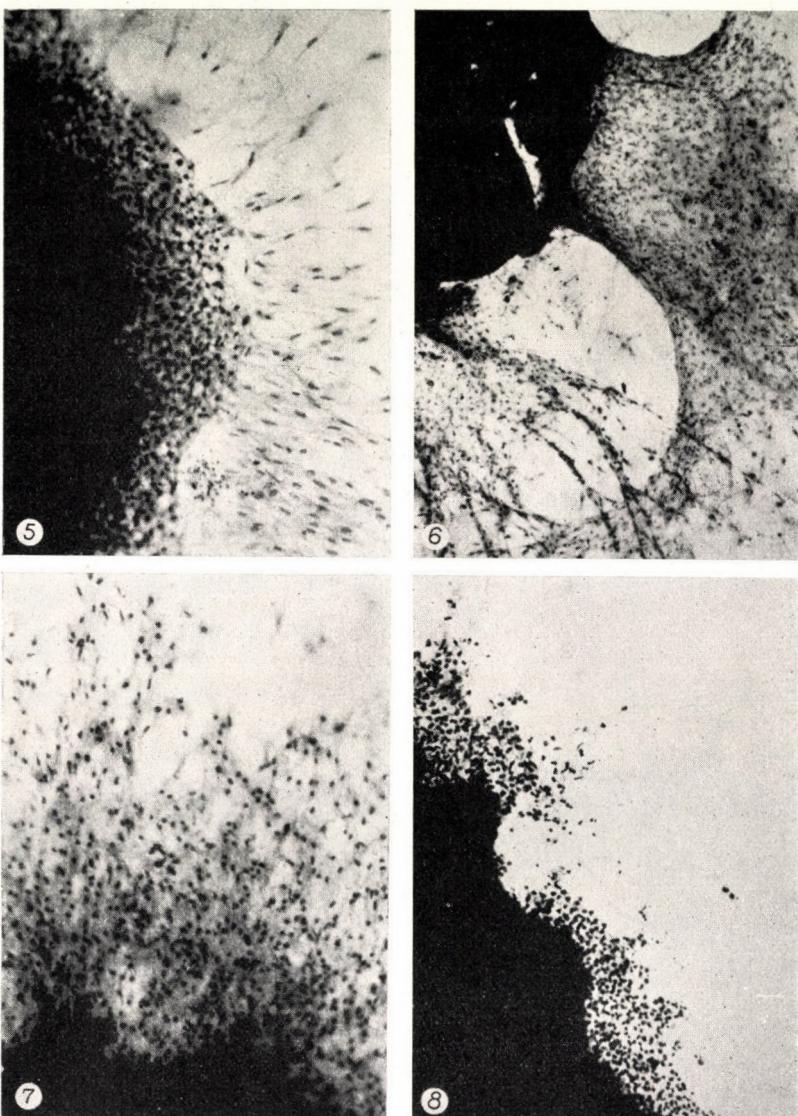


Abb. 5. Drei Tage alte Kultur von Leber eines 7tägigen Hühnerembryos. Ausgewachsene Fibroblasten und Endothelzellen, von einer Epithelmembran nachgefolgt. Bearbeitet wie bei Abb. 3. 80×. 6. Sieben Tage alte Kultur von Ösophagus eines 7tägigen Hühnerembryos (nicht gewaschen). Oben links — Epithelmembran, unten rechts — Fibroblasten. Bearbeitet wie bei Abb. 3. 32×. 7. Vier Tage alte Kultur vom Herzen eines Mäuseembryos. Bearbeitet wie bei Abb. 3. 80×. 8. Drei Tage alte Kultur von GUÉRINS Karzinom einer weißen Ratte. Bearbeitet wie bei Abb. 3. 32×

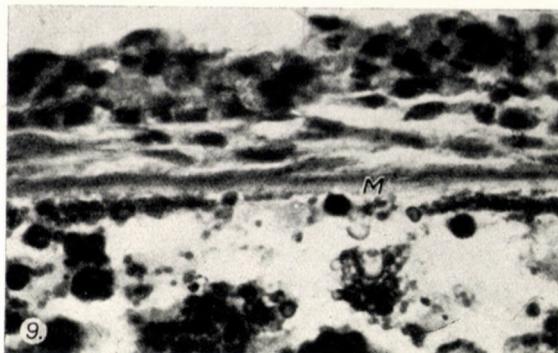


Abb. 9. Neun Tage alte Kultur von Leber eines 7-tägigen Hühnerembryos. Fixation nach CARNOY, vertikale Paraffinschnitte mit Hämatoxylin-Eosin gefärbt. M — Dotterhaut, oben Explantat, unten — Dotter mit Verdauungsmerkmalen (Dotterschollenzerfall, Dotterkörnervakuumisation)  
480×

### Besprechung der Resultate

Die Tatsache, dass an der Oberfläche des Hühnereidotters auf der Dotterhaut eine Gewebezüchtung durchgeführt werden kann, ist leicht zu erklären, wenn man bedenkt, daß der Eidotter mit dem Eiweißgehalt zusammen die Keimentwicklung bis zu fortgeschrittenen Stadien gewährleistet und damit nicht nur als Träger der Nährstoffe sondern auch der wachstumsfördernden Substanzen zu betrachten wäre.

Die von anderen Forschern erhaltenen Ergebnisse über die wachstums-hemmende Wirkung des Eidotters auf die Gewebekulturen *in vitro*, sind nur scheinbar mit den obenbeschriebenen in Widerspruch. Die wachstumshemmende Wirkung des Eidotters, die gewöhnlich mit dem reichen Gehalt an Lipoiden erklärt wird und vielleicht auch gewissen anderen hochmolekulären Verbindungen zugeschrieben werden soll, wird in unserem Falle durch die semipermeable Dotterhaut, worauf die Gewebe wachsen, eliminiert.

Man darf aber noch nicht mit Sicherheit die Frage beantworten, ob es sich bei der Züchtung nach dieser Methode um die Möglichkeit eines theoretisch permanenten Wachstums handelt. Da technische Schwierigkeiten im Wege standen, konnte man bis jetzt kein Passagieren der Gewebekulturen von einem auf einen anderen Dotter vornehmen.

Die Versuche mit der Gewebezüchtung auf einem aus Dotterdialysat und Plasma bestehenden Medium nach der Methode des hängenden Tropfens zeigten, dass im Dotterdialysat gewisse wachstumsstimulierende Substanzen vorhanden sind, d. h. die Dotterhaut ist für diese Substanzen durchlässig; die letzten sind aber für ein unbeschränktes Wachstum ungenügend, da ein Passagieren der Kulturen in Dotterdialysat-Plasma-Medium nicht gelang.

Im Einklang mit diesen Ergebnissen stehen einige in der Literatur mitgeteilte Untersuchungen über die Wirkung des aus Embryonalgewebeextrakt durch Kolloidummembran hergestellten Dialysates. So hat WRIGHT [9] auf den wachstumsstimulierenden Effekt eines solchen Dialysates über Herzfibroblastenkulturen hingewiesen. TAZIMA [7] und BOHUS JENSEN und HARRIS [1] bewiesen, daß dieser Effekt sich jedoch in einem beschränkten Gewebewachstum ausdrückt und für eine Dauerzüchtung ungenügend bleibt. In letzter Zeit kam man zu der Auffassung, daß dem permanenten Gewebewachstum *in vitro* ein Komplex von niedrig- und hochmolekulären wachstumsfördernden Substanzen zu Grunde liegt; der Tatbestand bleibt aber noch nicht erklärt [6].

In engerer Beziehung zu den von mir erhaltenen Resultaten sind diese bereits in der Einleitung erwähnten Versuche von WRIGHT, welche die wachstumsstimulierende Wirkung des Dotterdialysates zeigten. WRIGHT arbeitete mit einem Dialysat, der durch Kolloidummembran vom 7—8 Tage bebrüteten Hühnereidotter hergestellt war. Es ist klar, daß dieser Forscher sich von der vorgefassten Meinung leiten liess, dass die wachstumsfördernden Stoffe in den späteren Keimentwicklungsstadien erscheinen. Man sah von den oben dargelegten Versuchen die Anwesenheit solcher Stoffe noch im frischen, unbebrüteten Ei.

Das im Dotterdialysat-Plasma-Medium beobachtete beschränkte Gewebewachstum schliesst jedoch nicht die Möglichkeit einer langdauernden und vielleicht theoretisch unbegrenzten Gewebezüchtung an der Dotteroberfläche aus, da die Sachen beim letzten Falle nicht so einfach wie beim ersten sind: einerseits ist der Dotter reicher an Substanzen als das Blutplasma, anderseits kommt der einfachen Dialyse, wie die schon erwähnten Merkmale einer Dotterverdauung zeigten, noch eine aktive, durch die Dotterhaut auf die unterliegenden Dottersubstanzen ausgeübte Zellentätigkeit der Gewebekulturen zu.

#### LITERATUR

1. BOHUS JENSEN, A., HARRIS, L. (1952) The behaviour of chick heart fibroblast in some protein-free media. *Exper. Cell Res.*, **3**, 706—709.
2. FISCHER, A. (1930) *Gewebezüchtung*. Müller & Steinicke, München.
3. JORDANOV, J., GEORGIEV, I. (1955) Use of some natural and artificial permeable membranes for the implantation and explantation of tissues and organs. *C. R. Acad. Bulg. Sci.*, **8**(4), 41—44.
4. PARKER, R. C., MORGAN, J. F. (1950) Use of antitryptic agents in tissue culture. II. Egg-white antitrypsin. *Proc. Soc. Exp. Biol.*, **74**, 344—346.
5. SPRATT, JR. N. T. (1946) Development *in vitro* of the early chick blastoderm explanted on yolk and albumen extract saline-substrata. *J. Exp. Zool.*, **106**, 345—365.
6. STEWART, D. C., KIRK, P. L. (1954) The liquid medium in tissue culture. *Biol. Rev.*, **29**, 119—153.
7. TAZIMA, M. (1940) Influence of dialysis of the embryonic tissue extract on the growth of tissue *in vitro*. *Tohoku J. Exper. Med.*, **38**, 8—13.
8. WRIGHT, G. P. (1925) Presence of a growth stimulating substance in yolk of incubated hen's eggs. *Proc. Soc. Exper. Med.*, **23**, 603—605.
9. WRIGHT, G. P. (1926) On the dialysability of the growth-activating principle contained in extracts of embryonic tissues. *J. Exper. Med.*, **43**, 591—594.

## КУЛЬТУРА ТКАНЕЙ НА ПОВЕРХНОСТИ ЖЕЛТКА КУРИНОГО ЯЙЦА НА ЖЕЛТОЧНОЙ ОБОЛОЧКЕ

Авторы дают описание простой методики культуры тканей на поверхности желтка куриного яйца (*membrana vitellina*) на желточной оболочке. Некоторые куриные эмбриональные ткани, в частности фибробласты сердца, но и кишечные и печеночные эпителии проявляли по данной методике хорошее развитие. Более слабое разрастание наблюдалось в случае сердечных фибробластов мышей и раковых клеток *Герэна* у белых крыс.

Данная методика не обладает преимуществами обычной культуры по *Каррелю*, в частности не в отношении возможностей прижизненного наблюдения, пассажа и длительной культуры. Однако, она имеет исключительное значение с точки зрения общей биологии и цитологии, ибо она по существу представляет собой культивирование на поверхности яйцевой клетки, т. е. на ее мембране (*zona pellucida*) и способствует выяснению важных проблем биологии яйцевой клетки. Так напр., наблюдалось, что способствующие росту тканей вещества в той или другой форме присутствуют в свежем неинкубированном яйце.

Дальнейшие исследования должны выявить, предоставляет ли данная методика возможность для теоретически перманентной культуры тканей.

## CULTIVATION OF TISSUES ON THE VITELLINE MEMBRANE ON THE SURFACE OF THE YOLK OF HEN'S EGGS

The paper describes a simple method of cultivating tissues on the vitelline membrane of gallinaceous ova. Transplanted to the surface of the yolk of hen's eggs, some embryonic chick tissues, cardiac fibroblasts in particular, but intestinal and hepatic epithelia as well, displayed vigorous proliferation. A somewhat weaker proliferation of the heart-fibroblasts of mice and of GUERIN's rat-carcinoma cells was also observed.

As regards vital observation, passaging, and continued breeding, the new method is inferior to CARREL's cultivation of tissues. Since, however, the new method makes it possible to grow cultures on the envelope of egg cells (i. e. the pellucid zone of the ovum), it possesses both general biological and special cytological significance, because it facilitates the elucidation of important problems concerning the biology of egg cells. For instance, fresh, unhatched eggs were found still to contain, in some form or other, substances that are conducive to tissue growth.

Further investigations are necessary to decide the question whether the new method allows a theoretically permanent cultivation of tissues.



# EXPERIMENTS ON THE DESICCATION RATE IN LEAVES OF THE SAME PLANT

L. J. M. FELFÖLDY

BIOLOGICAL RESEARCH INSTITUTE OF THE HUNGARIAN ACADEMY OF SCIENCES, TIHANY, LAKE BALATON  
(DIRECTOR: E. WOYNÁROVICH)

(Received January 21, 1957)

## Summary

The daily rhythm of desiccation rate of detached leaves of the same plant and the effect of insertion (= age) were studied in different plant species.

To sum up, it may be stated that no sort of general rule can be established for the desiccation velocity of leaves inserted at different heights on a plant, but that the special characteristics of each species must be determined separately. Moreover, the experiments we have carried out seem to convey that the hitherto generally accepted view according to which the younger leaves have less water-retaining capacity, cannot be maintained any more.

In the case of *Chenopodium album* the rate of desiccation is the slowest in the middle aged (medially inserted) leaves, in the case of *Convolvulus arvensis* in the upper leaves, whereas the lower, older leaves of *Portulaca oleracea* have the slowest velocity of water loss.

The time of plucking and the beginning of drying, respectively, plays an important role in the development of water-retaining capacity of detached leaves; in other words, there is a daily rhythm in the development of water-binding power. No general rule can be established in this respect either, since it depends first of all on the specific characteristics of the plant species.

Experiments in this field caution us to still greater circumspection in every case where we intend to use the desiccation rate of a leaf for a given purpose, to demonstrate any characteristics because — as follows from what has been said — in the same period we may obtain desiccation curves of very divergent courses from the same plant.

## Methods

The plucked leaves were dried under standardized and controlled conditions. Whole leaves were dried at 28—33° C and with relative humidity of 39—50% in a ventilated drying chamber in which the air moved at a velocity of about 5—10 m/min. The regular variations in temperature and relative humidity were due to the inertness of the electric heater and the relay. But considering that within half an hour a maximum and a minimum occur (42—50 maxima in 24 hours) the uniform and frequent nature of the oscillations, according to hygrographic data, means that the temperature and the relative humidity in the chamber can be taken as uniformly 30° C and 45%. These experimental conditions made it possible to produce the desiccation curves independent of the conditions prevailing in the laboratory.

The dry-substance content of the samples was obtained at a temperature of 105° C at the end of the experiment. The desiccation curves register the changes in the water-content of the samples as related to this dry-substance.

## Variation in desiccation rate of leaves at different levels on the stalk

The tempo of water loss is not the same for all leaves, not even for those of the same plant and under identical conditions. The leaves at different levels on the stalk have not the same physiological values, hence it cannot

be expected that they should behave in the same way from the point of view of desiccation either [9, 4, 7, 12, 1, 2, 10, 8, 5 et al.].

Just for that reason, before starting any experiments on the rate of water loss, we had to determine how the leaves of different species, inserted at different levels, behaved in this respect. We present from among our experiments the work accomplished on leaves of the rapidly drying field bindweed (*Convolvulus arvensis*), the white goosefoot (*Chenopodium album*)

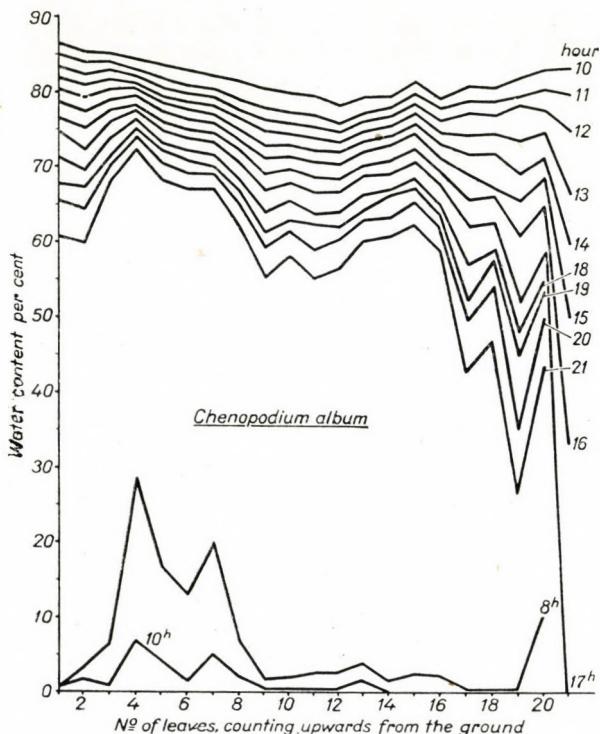


Fig. 1. The desiccation rates of 21 leaves plucked from one *Chenopodium album* plant

and the very slowly-drying purslane (*Portulaca oleracea*) [3, p. 229], all taken from specimens growing one beside the other in the same habitat. A thorough study of *Chenopodium album* in particular was found to be necessary in the light of our preliminary experiments.

To demonstrate our experiences with *Chenopodium*, we give in detail our experiment of July 9th, 1953, which was carried out on all the healthy, complete stalk leaves (21 in number) of a well-developed plant. Hourly measurements were made from 10 to 21 hrs, the next day at 8 and 10 o'clock. The results are shown in Fig. 1, where the changes in water-content (ordinate) of the 1st to 21st leaves (abscissa) are graphed. The values belonging to the same point of time

are connected by a line. The closer the points for the same leaf lie to one another, the slower the desiccation (e. g. the 4th and the 15th); the more sparsely the points follow one below the other, the more rapid the desiccation of the leaf (e. g. 17th to 21st leaves).

A glance at Fig. 1 is sufficient to establish the following :

The leaves dry out at very different rates, according to their distance from the ground.

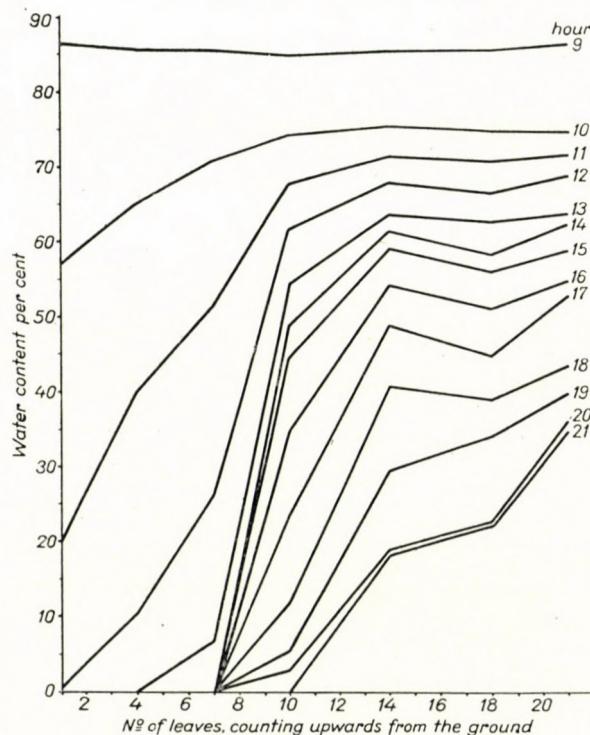


Fig. 2. The desiccation rates of 7 leaves from the same *Convolvulus arvensis* plant

In *Chenopodium album* a definite gradient cannot be found, either upwards or downwards, for the rate of desiccation decreases from the 1st to the 4th leaf, where a distinct minimum is observable (which is the more interesting as this difference does not exist in the initial water-content), then the desiccation rate accelerates ; the 9th to 12th leaves, the truly "middle region" leaves, all behave in the same way in this respect. From the 13th to 15th come leaves more resistant to desiccation. The 17th leaf was small and decidedly farinaceous, being in the growing stage, an undeveloped leaf. This and those above it all dried out very rapidly and their desiccation rate was also variable, unequal.

The initial water-content, described by the upper line on the graph marked as  $10^h$ , gives a more decided, clean-cut gradient than the desiccation velocity,

descending in tiers from leaves 1 to 12, from there, aside from the inequality apparent in leaves 15 and 16, again rising. The great water-content of the lower, older leaves can be explained by the more advanced stage of vacuolization of the leaf cells; that of the young leaves by the lack of fibrous elements containing relatively less water.

The fluctuations in water-retaining capacity apparent in the graph, which the preliminary experiments and the subsequent repetitions confirmed, may be

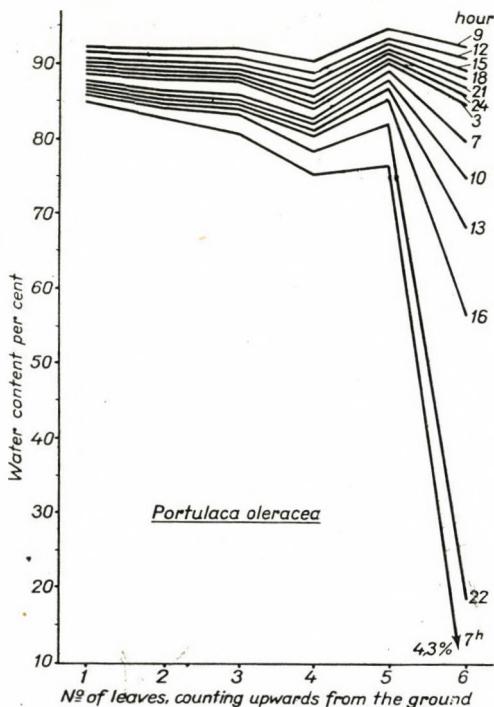


Fig. 3. The desiccation velocity of 6 differently inserted leaves from one *Portulaca oleracea*

cleared up only by further investigation and are probably due to environmental factors predominating during the development of the different leaves.

Our preliminary experiments show that *Convolvulus arvensis* behaves quite differently. Here it is not worth while putting every leaf under investigation, for the fluctuations always to be experienced in *Chenopodium* were not found in a single case in the *Convolvulus*. In Fig. 2 are shown the results of the study of a plant which also had 21 leaves (July 6th). Very clearly to be discerned here are the following moments :

The slower desiccation velocity of the younger leaves, for whereas constant weight in the lower leaves is reached in 3 to 5 hours, 20—35% water can still be found after 12 hours in those growing at the top of the stalk.

In the initial water-content of the *Convolvulus* leaves as compared with those of *Chenopodium* we do not find such a definite gradient. In the case presented in Fig. 2, it is true, a minimum water-content is to be observed in the middle leaves, though, as compared with the more than 10% variation in *Chenopodium* there is here a difference of only 1,5%. In other of our experiments the water-content sometimes increases uniformly from the lower to the upper leaves; some fluctuation was also occasionally observed. All this, however, may be attributed to experimental inaccuracy if we consider that the water loss in *Convolvulus* takes place very rapidly and that the differences in the water-content of the leaves is extremely slight.

In *Convolvulus arvensis* a direct correlation is to be observed between its capacity for water loss and the vacuolization of the cells. The cells of the young leaves rich in plasma retain their water better than the older cells, the thinned-down plasma of which indicates a lower degree of water-retention.

*Portulaca oleracea* was not sufficiently developed in July for us to be able to find more than 5—6 leaves on one plant. It is to be noted concerning the experimental conditions for the results shown in Fig. 3 that leaves 1, 2 and 3 were placed one above the other on the main stalk, the 4th was from the middle of a side branch, and that 5 and 6 derive from the tip of the shoot. It must also be pointed out that a so strikingly rapidly drying *Portulaca* leaf as No. 6 on that plant was found on only one other occasion, during experiments of another nature. The following can be stated of the leaves of different levels on the stalk of *Portulaca* (from Fig. 3 and 3 parallel experiments):

There is very little variation in the desiccation velocity of the developed leaves. They all dry out very slowly. In contrast to *Convolvulus*, the young leaves of *Portulaca* dry more rapidly and the water-retaining capacity of the older leaves is very great.

#### Daily rhythm in water-retaining capacity

No matter what biological characteristic we investigate, care must be taken to make the right selection of samples for the experiments. In the foregoing it was shown how widely divergent desiccation curves the leaves from the same plant can produce, depending on where they are situated on the plant. We must investigate also the daily rhythm of desiccation curves.

The rate of desiccation was investigated on leaves plucked at different hours of the day, from plants growing in the open. One of the two large series of experiments was made at Vácrátót between July 20th and August 20th, 1953, the other at Tihany, from August 30th to September 2nd, 1954. In both cases we worked with plants which were growing side by side, that is, in the same place, and we tried to use leaves in a uniform state of development.

The simplest case of variation as to the parts of the day is when there is no essential difference between the desiccation curves of leaves plucked at dawn and at noon ("dawn and noon curves"). We find such cases among the curves

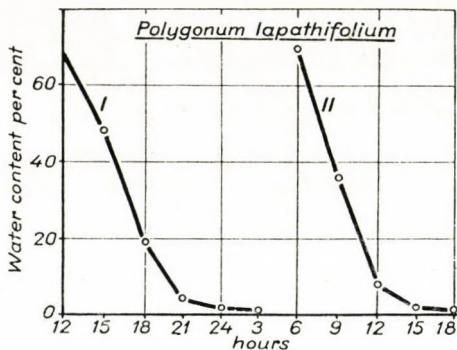


Fig. 4. The desiccation curves of leaves of *Polygonum lapathifolium* plucked at noon (I) and in the morning (II)

of both rapidly and slowly drying species. Fig 4 shows the desiccation rate of leaves of *Polygonum lapathifolium* plucked at 12 hrs (I) and at 6 hrs. There is no divergence between the two curves. We get a similar picture in *Malva silvestris*,

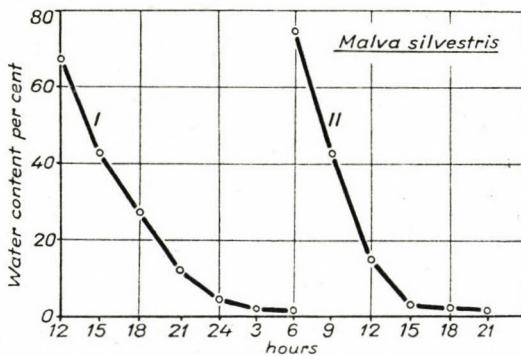


Fig. 5. The desiccation curves of leaves of *Malva silvestris* plucked at noon (I) and at dawn (II)

though here the noon (I) curve is slightly more elongated, showing a slower water loss, similar to that of *Chenopodium* which will be presented later (Fig. 5).

*Atriplex tatarica*, with its slow desiccation rate, also belongs among those plants on the curves of which diurnal change is not perceptible. The same is true of *Portulaca oleracea* which underwent detailed examination (Fig. 7).

*Convolvulus arvensis* has quite different characteristics (Fig. 8 and 9). The noon curve (I) here is steep, as in the rapidly drying *Polygonum* or *Malva*. The other curves, however, fall more gradually, betraying moderate water-

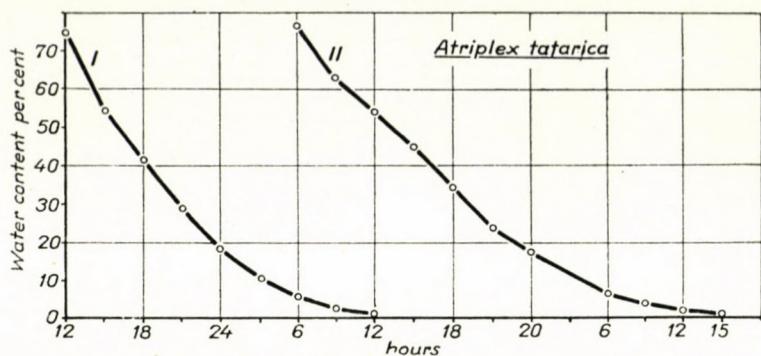


Fig. 6. The desiccation curves of leaves of *Atriplex tatarica* plucked at noon (I) and at dawn (II)

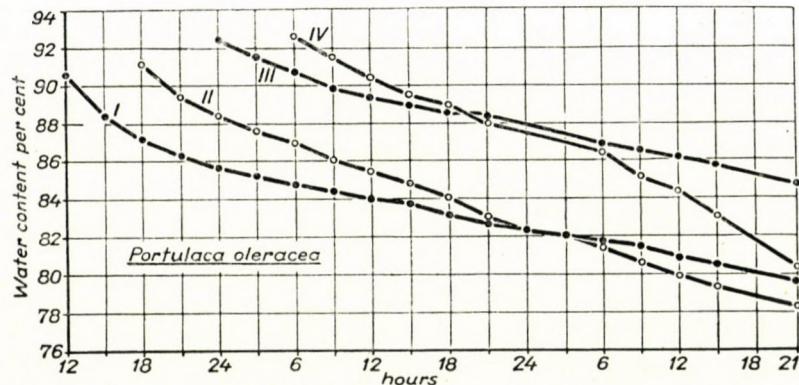


Fig. 7. Desiccation curves of leaves of *Portulaca oleracea* plucked at noon (I), in the afternoon (II), at midnight (III) and at dawn (IV)

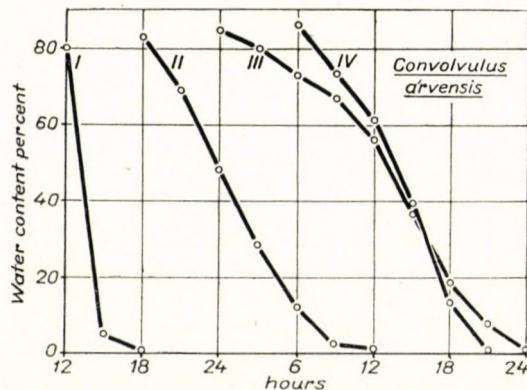


Fig. 8. The daily rhythm of water loss of *Convolvulus arvensis* leaves based on the experiment at Vácrátót, July 22. 1953 (See Fig. 7)

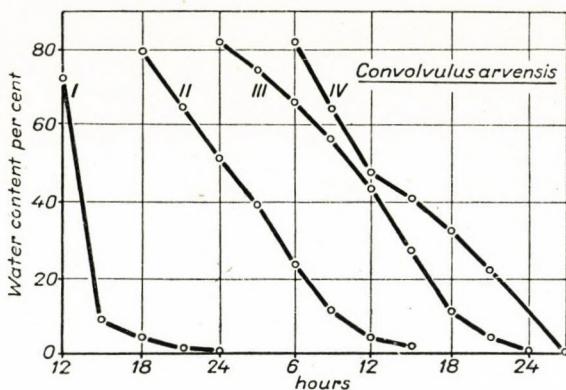


Fig. 9. The daily rhythm of water loss of *Convolvulus arvensis*; the experiments made at Tihany, Aug. 30. 1954

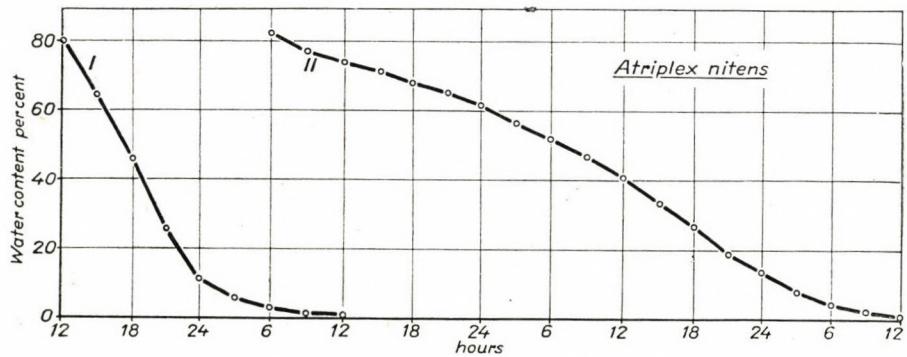


Fig. 10. Desiccation curves of *Atriplex nitens* leaves plucked at noon (I) and at dawn (II)

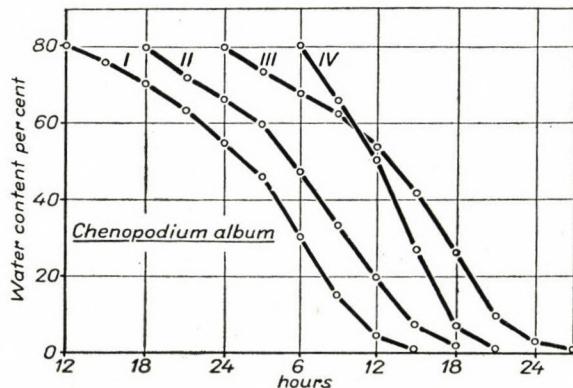


Fig. 11. Desiccation rates of *Chenopodium* leaves from the experiments at Vácrátót, July 22. 1953

retaining capacity. If we were to compare only the noon (I) and the dawn (IV) curves we might simply characterize this *Convolvulus* type by saying that its desiccation rate is rapid during the diurnal period deficient in water, and slower in the time of more generous water supply. The samples taken every six hours still better prove the definite influence of external conditions on the desiccation of plucked *Convolvulus* leaves. The midnight curve is the most protracted, those of dawn and afternoon are medium, and the noon curve (I) the steepest. *Convolvulus* is a rapidly drying plant. Among the species with good water-retaining capacity and slow desiccation rates *Atriplex nitens* may be referred to as one in

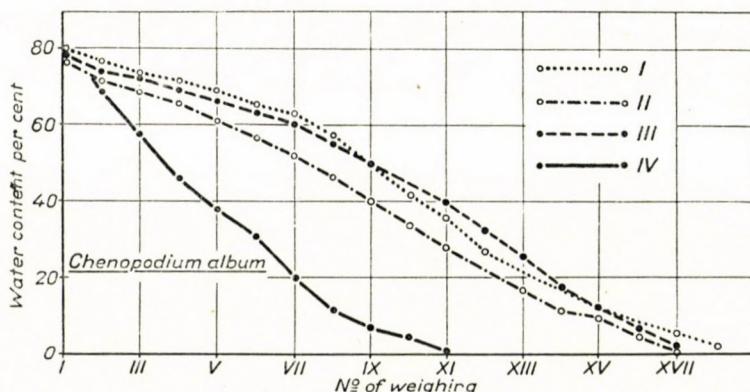


Fig. 12. Daily rhythm of water loss of detached *Chenopodium album* leaves based on the experiments at Tihany, Aug. 30. 1954. The starting points of the curves are put at zero on the abscissa, to make their slopes more obvious. I: Noon, II: afternoon, III: midnight, IV: dawn

which the velocity of water loss is almost parallel with the rate of environmental water provision (Fig. 10).

A quite exceptional situation is to be seen in *Chenopodium album*. In the noon—dawn relation (Fig. 11) the noon curve is the flatter, which is unusual because at that time there is a good 5% less water to be found in the leaves, this, however, evaporating more slowly than the 5% greater quantity at dawn. Figure 11 is most instructive, where we see the curve of leaves gathered every six hours. In order of mounting precipitation: dawn (IV), afternoon (II), midnight (III) and noon (I). We shifted the starting point of all the curves of the Tihany experiment in Fig. 12 to 0 point on the abscissa, which makes the order of their steepness still more apparent: IV, II, III, I.

The two experiments accord excellently and we can maintain that the desiccation tempo of leaves plucked from *Chenopodium album* do not conform to the rules found for the previously described plants.

### Discussion

To sum up, it may be stated that no general rule can be established for the desiccation velocity of leaves inserted at different heights on a plant, but that the special characteristics of each species must be determined separately. Nor do the experiments we have presented, confirm the generally accepted view that the younger leaves have less water-retaining capacity.

On the basis of our experiments on diurnal variations in the desiccation rate of plucked leaves, the following may be said :

Very different correlations, varying according to species, are to be found between the velocity of desiccation of plucked foliage leaves and diurnal changes in environmental factors. No general rule applicable to all plants can be established.

There are plants the desiccation curves of which do not change to any extent according to the time of day. Among these are species with rapidly drying leaves (*Polygonum lapathifolium*, *Malva silvestris*) as well as slowly drying ones (*Portulaca oleracea*, *Atriplex tatarica*).

Among plants with desiccation rates varying strikingly throughout the day, there are some in which the desiccation of the leaves goes parallel with the water provision : at the times of ample water supply the leaf tissues are filled with water and the greater amount of water in the saturated leaves takes a longer time to evaporate. In the periods with a paucity of water, less can be found in the leaves and this is lost from the tissues more rapidly. Among the rapidly drying plants *Convolvulus arvensis* is of this kind, among the slow to dry *Atriplex nitens*.

The desiccation curves of *Chenopodium album* show peculiar relationships to the daily fluctuations. In contrast to the species in the foregoing groups, it retains water the best in the driest periods, while at dawn, under abundant water supply, desiccation of the leaves is the most rapid.

We can partly explain the characteristics of the daily rhythm in the desiccation curve through knowledge of the ecological-physiological peculiarities of the species, even if we do not discern the direct cause of the differences in water-binding capacity. The simplest to understand are the cases where the desiccation curve and the rhythm of water supply are parallel. Among these is the deep-rooted *Convolvulus arvensis* species, the water supply of which is always assured [11], hence it belongs to the HENCKEL's hemixerophytes. Under intense evaporation this plant protects itself against the injurious effects of drought by using the water from deeper soil levels and for this reason water-binding capacity in its leaves did not develop during the evolution of the species.

*Atriplex nitens* follows another route for its "phylogeny" of drought resistance. Its tufted root system penetrates relatively to no great depth; instead, it is the water-retaining capacity of its leaves which makes it drought resisting. This water-retaining capacity, however, is still a direct function of environmental factors, in contrast to the leaves of *Chenopodium album*, in which the water-

retaining capacity is based upon physiological characteristics which make the plant more or less independent of environmental factors; in fact, if the external influences become too unfavourable it responds with increased resistance. *Atriplex nitens* cannot be said to be a true xerophyte, only a xerophytoid, tending towards succulence: a succulentoid heliophyte. *Chenopodium album*, however, though its exterior appearance is of mezophytic character, also belongs, according to ecological observations and the testimony of the daily rhythm of its desiccation curve, among the euxerophytes of HENCKEL.

Those plants on the desiccation curves of which changes similar to those listed in the foregoing are not to be observed are difficult to pass judgment on without further investigation. *Portulaca oleracea*, as true succulent, is disposed by its whole structure to bind and to retain water. It is a plant with slow metabolism and because of the slowness of its reactions its diurnal rhythm is also obscured. The rapidly drying *Polygonum lapathifolium* is not a drought resistant species; in its habitats it generally obtains sufficient water. *Malva silvestris* tends to resemble *Chenopodium album* from the point of view of water relations: from the one experiment (average of three parallels) a protracted water loss appears in leaves plucked at the disadvantageous noon hour.

The results of our investigations lead to the conclusion that the desiccation curve should not by itself be used to characterize the plants; it is not worth while to utilize it in seeking differences in kind, nor in attempting the ecological characterization of species. It is to be noted, moreover, that the desiccation curve alone does not convey sufficient information on the plant's water relations or drought resistance. We are in a position to explain the quality of the desiccation curve by knowing the ecological-physiological characteristics of the species, but due precautions should be taken when drawing conclusions from the desiccation rate as to these characteristics. We can achieve our purpose only if the primary causes of the variations in the desiccation curve are investigated and established.

#### REFERENCES

1. AVERY, G. S. jr. (1934) Structural responses to the practice of topping tobacco plants: A study of cell size, cell number, leaf size and veinage of leaves at different levels on the stalk. *Bot. Gaz.*, **96**, 314—329.
2. BEILER, A. (1945) Insertionshöhe und Sättigungswassermangel der Blätter von *Pisum sativum*. *Planta*, **34**, 125—137.
3. DILLMANN, A. C. (1931) The water requirement of certain crop plants and weeds in the Northern Great Plains. *J. Agric. Res.*, **42**, 187—238.
4. EATON, F. M. (1930) Cell-sap concentration and transpiration as related to age and development of cotton leaves. *J. Agric. Res.*, **40**, 791—803.
5. FARKAS, G. and RAJHÁTHY, T. (1952) Szárazságellenálló fajták nemesítésének módszertani kutatásai. Researches on the methods of breeding drought resistant varieties. II. *Növénytermelés*, **1**, 5—25. (In Hungarian with English summary.)
6. Тенкель, П. А. (1946) Устойчивость растений к засухе и пути ее повышения. *Тр. инст. физиол. растений им. Тимирязева*, **5** (1).
7. MOTHES, K. (1932) Ernährung, Struktur und Transpiration. Ein Beitrag zur kausalen Analyse der Xeromorphosen. *Biol. Zbl.*, **52**, 193—223.
8. RAJHÁTHY, T. (1951): Szárazságellenálló fajták nemesítésének módszertani kutatásai.

- Researches on the methods of breeding drought resistant varieties. I. *Martovásári Növ. Term. Kut. Int. Évk.*, 1951, 67—93. (In Hungarian with English summary.)
9. STĂNESCU, P. P. (1929) Über das Welken und Austrocknen der Pflanzen. I. Vorl. Mitt. Bull. Sect. Sci. Acad. Roum. **12**, 43—47.
  10. TADROS, T. M., SAAD SHOKRY, I. (1951) Studies on the physiology of the cotton plant. II. The water content of the cotton leaves. *Proc. Egyptian Acad. Sci.* **7**, 34—44.
  11. UJVÁROSI, M. (1951) Szántóföldi gyomnövényeink. Hungarian Field Weeds. *Mezőgazdasági Kiadó*, Budapest. (In Hungarian.)
  12. YAPP, R. H., MASON, U. C. (1932) The distribution of water in the shoots of certain herbaceous plants. *Ann. of Bot.*, **46**, 159—181.

## ИССЛЕДОВАНИЕ СКОРОСТИ ВЫСЫХАНИЯ ЛИСТЬЕВ ОДНОГО И ТОГО ЖЕ РАСТЕНИЯ

Исследовалось высыхание оторванных листьев одного и того же растения в функции их ярусности (положения на стебле) и суточного ритма.

Резюмируя результаты исследования можно установить, что на основе полученных данных нельзя определить общедействительного правила в отношении скорости высыхания листьев одного и того же растения, в зависимости от их положения на стебле, а только то, что необходимо в отдельности определить специальные свойства каждого вида их. Проведенные опыты не подтвердили общепринятого взгляда, что молодые листья обладают меньшей водоудерживающей способностью.

У *Chenopodium album* медленнее всего высыхают срединные листья, у *Convolvulus arvensis* наибольшая водоудерживающая способность наблюдается у верхушечных листьев, в то время как у *Portulaca oleracea* сильнее всего связывают воду самые развитые (низовые) листья.

Начало обезвоживания, или же момент отрыва листа, также играет важную роль в образовании водоудерживающей способности его, то есть, образование водоудерживающей способности имеет суточный ритм. В этом отношении также нельзя установить общедействительного правила, так как это прежде всего зависит от специфического видового характера растения.

В результате проведенных в данном направлении исследований следует установить, что требуется большая осмотрительность при применении скорости высыхания для любой цели, к определению какого-нибудь качества, так как в одно и то же время от одного и того же растения получаются кривые высыхания весьма различного протекания.

## EXPERIMENTE BETREFFEND DIE GESCHWINDIGKEIT DES AUSTROCKNENS DER BLÄTTER EIN UND DERSELBEN PFLANZE

Wir untersuchten das Austrocknen abgebrochener Laubblätter ein und derselben Pflanze in Abhängigkeit von der Insertion und des Tagesrythmus.

Zusammenfassend konnten wir feststellen, dass man betreffend die Geschwindigkeit des Austrocknens der Blätter die in verschiedenen Höhen standen, keine generelle Regel aufstellen kann. Die spezielle Eigenschaft jeder einzelnen Art muss gesondert festgestellt werden. Auf Grund unserer Ergebnisse müssen wir aber jene allgemein anerkannte Ansicht, nach welcher jüngere Blätter eine geringere Wasserretentionsfähigkeit besitzen würden, bestreiten.

Bei *Chenopodium album* dauert das Austrocknen der mittleren Blätter am längsten, bei *Convolvulus arvensis* ist die Wasserretention in den höchststehenden Blättern am bedeutendsten und bei *Portulaca oleracea* binden die entwickeltesten (unteren) Blätter das Wasser am stärksten.

Bei der Retentionsfähigkeit des Wassers in abgebrochenen Blättern spielt auch der Zeitpunkt des Beginnes der Austrocknung resp. des Abbrechens des Blattes eine wichtige Rolle. D. h. die Ausbildung der Wasserretentionsfähigkeit besitzt einen Tagesrythmus. Aber auch in dieser Beziehung kann keine generelle Regel aufgestellt werden, weil auch hier jede Regel vom speziellen Arterekarakter der Pflanze abhängig ist.

Bei solchen Experimenten ist besonders dann grösste Vorsicht geboten, wenn wir die Geschwindigkeit des Austrocknens zur Charakterisierung irgendeiner Eigenschaft der Pflanze benutzen wollen. Aus den oben gesagten folgt nämlich, dass wir auch zur gleichen Zeit ganz verschiedene Austrocknungskurven bei ein und derselben Pflanze bekommen können.

The *Acta Biologica* publish papers on biological subjects, in English, German, French and Russian.

The *Acta Biologica* appear in parts of varying size, making up one volume.

Manuscripts should be typed and addressed to :

*Acta Biologica, Budapest, IX., Tűzoltó u. 58.*

Correspondence with the editors and publishers should be sent to the same address.

The rate of subscription to the *Acta Biologica* is 110 forint a volume. Orders may be placed with „Kultúra” Foreign Trade Company for Books and Newspapers (Budapest, VI., Népköztársaság útja 21. Account No. 43-790-057-181) or with representatives abroad.

---

Les *Acta Biologica* paraissent en français, allemand, anglais et russe et publient des travaux du domaine des sciences biologiques.

Les *Acta Biologica* sont publiés sous forme de fascicules qui seront réunis en un volume.

On est prié d'envoyer les manuscrits destinés à la rédaction et écrits à la machine à l'adresse suivante :

*Acta Biologica, Budapest, IX., Tűzoltó u. 58.*

Toute correspondance doit être envoyée à cette même adresse.

Le prix de l'abonnement est de 110 forints par volume.

On peut s'abonner à l'Entrepise du Commerce Extérieur de Livres et Journaux »Kultúra« (Budapest, VI., Népköztársaság útja 21. Compte-courant No. 43-790-057-181) ou à l'étranger chez tous les représentants ou dépositaires.

---

«*Acta Biologica*» публикует трактаты из области биологии на русском, немецком, английском и французском языках.

«*Acta Biologica*» выходит отдельными выпусками разного объема. Несколько выпусков составляют один том.

Предназначенные для публикации рукописи (в напечатанном на машинке виде) следует направлять по адресу :

*Acta Biologica, Budapest IX., Tűzoltó u. 58.*

По этому же адресу направлять всякую корреспонденцию для редакции и администрации.

Подписная цена «*Acta Biologica*» — 110 форинтов за том. Заказы принимает предпринятие по внешней торговле книг и газет «*Kultúra*» (Budapest VI., Népköztársaság útja 21. Текущий счет № 43-790-057-181) или его заграничные представительства и уполномоченные.

I N D E X

- Kovács, E.*—*Matkovics, B.* : Veränderung der Katalaseaktivität in *Streptomyces griseus*-Kulturen ..... 343
- Dvihally, Zs.*—*Ponyi, J.* : Charakterisierung der Natrongewässer in der Umgebung von Kistelek auf Grund ihrer chemischen Zusammensetzung und ihrer Crustacea-Fauna 349
- Kormos, J.*—*Kormos, K.* : Determination in der Entwicklung der Suktiorien. I. Die Determination der Stelle der Embryoorganisierung ..... 365
- Kormos, J.*—*Kormos, K.* : Die Ontogenese der Protozoen ..... 385
- Maácz, G. J.* : Über die Blattepidermis von *Ginkgo biloba* L. ..... 403
- Csaba, Gy.*—*Rappay, Gy.* : New data regarding the regulation of the RES of the liver by the central nervous system ..... 411
- Bierbauer, J.* : Untersuchungen über die Regeneration und Histologie von *Helix pomatia* 419
- Jordanov, J.* : Gewebezüchtung an der Oberfläche des Hühnereidotters auf der Dotterhaut 433
- Felföldy, L. J. M.* : Experiments on the desiccation rate in leaves of the same plant ..... 443