

# Färbestudien an den Schleimkörperchen und Schleimabscheidungen einiger Euglenen

Von

**Alfred Diskus**

Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut der Universität Wien

Mit 5 Textabbildungen

(Eingelangt am 1. März 1955)

## Einleitung

Anknüpfend an eine in dieser Zeitschrift erschienene Vitalfärbestudie an Euglenaceen (Diskus 1954) soll im folgenden über weitere einschlägige Untersuchungen berichtet werden.

In meiner ersten Arbeit wurde das Färbeverhalten der Körperhülle (des Periplasten) sowie die Farbspeicherung im Inneren der *Euglena*-Zelle behandelt. Es zeigte sich, daß die Körperhülle der Euglenen mit basischen Farbstoffen vital elektroadsorptiv färbbar ist, eine Erscheinung, welche dem Färbeverhalten der Zellulosemembranen höherer und niederer Pflanzen gleicht. Ausgezeichnet ist der Periplast durch das Vorhandensein eines isoelektrischen Punktes (IEP): Bei einem bestimmten pH-Bereich, meist um pH 3,0, tritt eine Umladung der Substanz des Periplasten ein, solcherart daß die Farbkationen nun nicht mehr gespeichert werden können. Dafür findet bei einem pH unter 3,0 eine Speicherung von Farbanionen saurer Vitalfarbstoffe statt.

Die Farbspeicherung im Zellinneren der Euglenen erfolgt in Form von Tröpfchen im Plasma. Wie anderwärts, sind auch hier nur molekulare Farblösungen befähigt, in die Zelle einzudringen. Farbkationen, wie sie etwa in einer Neutralrotlösung bei pH 4,0 vorliegen, werden lediglich an der Körperhülle gespeichert. Auch in die Hauptvakuole, das Osmoseorganell der Euglenen, kann der Farbstoff in ionisierter Form nicht eindringen.

Im Verlaufe meiner über einige Jahre zurückreichenden Untersuchungen habe ich neben den eben beschriebenen Erscheinungen an zahlreichen Euglenen Schleim- und Gallertbildungen beobachtet und gefärbt. Diese in vielerlei Hinsicht interessanten Bildungen sind nun Gegenstand der vorliegenden Arbeit. Insbesondere sollen hier die von Dangeard (1901) erstmalig beobachteten Schleimkörperchen näher betrachtet werden. Über die Bezie-

hung von Schleimausscheidung und Kriechbewegung sowie über den Einfluß der Vitalfärbung auf die metabolischen Bewegungen der Zellen wird in gesonderten Abschnitten eingegangen. Schließlich werden noch Beobachtungen über die Färbekrosen und die Färberesistenz einiger Versuchseuglenen anzuführen sein.

Bezüglich der Methodik und der färbetechnischen Details sei auf meine erwähnte Arbeit (Diskus 1954, S. 195) verwiesen. Auch auf die wichtigste Literatur wurde dort bereits Bezug genommen. Besonders hinweisen möchte ich hier nur auf die jüngste zusammenfassende Darstellung der Gattung *Euglena* von Mary Gojdics (1953): „The Genus *Euglena*.“ Auf das Buch, das mir bei Abschluß des Manuskriptes zugänglich wurde, werde ich noch verschiedentlich zurückkommen.

### Material

Für die Versuche war es erforderlich, stets gesundes Euglenenmaterial in ausreichender Menge zur Verfügung zu haben. Zu diesem Zweck wurden die von den Exkursionen eingebrachten Proben im Fließwasserbecken des Instituts aufbewahrt und das Standortswasser häufig erneuert. Auf diese Weise haben sich viele Euglenen lange Zeit in Kultur halten lassen. Meine wichtigsten Versuchsobjekte waren:

*Euglena viridis* Ehrenb.: Diese häufigste Art ist wohl überall und zu jeder Jahreszeit zu finden. Meine Proben stammten aus stark eutrophen Wasseransammlungen (Jauchepfützen und Kanalausflüssen) in Ulmerfeld und Euratsfeld (N.-Ö.) sowie aus der näheren Umgebung von Wien (Mödling, Moosbrunn). Häufig bezog ich *Euglena viridis* aus einer Wasserlache im Hofe einer Bombenruine nächst der Universität. Hier war vom Herbst 1952 bis zum Sommer 1953 stets eine reiche Euglenenvegetation anzutreffen. Selbst im Winter konnte man unter dem Eis, oder auch im Eis eingefroren, von diesem Standort gesundes Material beziehen. Das Standortswasser war relativ rein, da es ja lediglich Regen- oder Schneeswasser war, welches sich hier in einer flachen Mulde angesammelt hatte.

*Euglena viridis* var. *mucosa* Lemm. fand ich im Frühjahr 1952 reichlich in einem Abflußgraben in Ulmerfeld bei Amstetten (N.-Ö.).

*Euglena geniculata* Duj. stand mir aus einer salzhaltigen Lacke am Ortsausgang von Illmitz (Neusiedlersee) zur Verfügung. Die Salzlacke war durch die frei aus der Ortschaft ablaufenden Abwässer stark eutrophisiert. Dieselbe Art sammelte ich im Herbst 1951 in Ulmerfeld. Sie fand sich am Grunde eines Wassergrabens als grüner Bodenbelag vor. Bei besonders üppiger Vegetation war die Wasseroberfläche mit einer dicken, von Oscillatorien durchsetzten Euglenaschicht bedeckt.

*Euglena halophila* n. sp. Schiller (vgl. Diskus 1953): Diese *Euglena* wurde in einem stark sodahaltigen Tümpel bei Podersdorf (Neusiedlersee) gefunden.

*Euglena deses* Ehrenb., wohl eine Sammelart, kommt meist gesellig mit anderen Euglenen vor. Ich sammelte sie reichlich in den Altwässern der Donau unterhalb von Wien, zusammen mit anderen Eugleninen (*Phacus triqueter*, *Ph. longicauda*, *Ph. alata*, *Ph. pyrum*, *Lepocinclis ovum*).

*Euglena granulata* Klebs erwies sich als dankbares Objekt für Vitalfärberversuche. Sie wurde von April bis Juni 1953 mehrmals in den Altwässern der Donau bei Stockerau gefunden. Die Euglenen bildeten einen grünen Belag am Grunde eines 10—20 cm tiefen, träge fließenden Seitenarmes der Donau, fanden sich aber auch reichlich an der Oberfläche im Auftrieb zwischen Fäden von *Oscillatoria limosa* und *Melosira sp.* Im Sammelgefäß hielt sich diese *Euglena* nur bei ständiger Kühlung im Fließwasserbecken. Sie konnte, im Gegensatz zu den meisten übrigen Euglenen, starke Temperaturschwankungen nicht ertragen.

*Euglena gracilis* Klebs trat im April in einem verlandenden Teich in Ulmerfeld (N.-Ö.) massenhaft auf. In einem Gefäß, welches faulende Pflanzenreste enthielt, konnte sie lange Zeit in Kultur gehalten werden.

*Euglena caudata* Hübner fand ich vereinzelt in Wasserlachen in den Donauauen bei Regelsbrunn (ca. 50 km donauabwärts von Wien).

*Astasia ocellata* Khawkine, eine farblose Euglenine, tritt oft massenhaft in alternden Euglenenproben auf. In frisch gesammelten Proben fand ich sie nur in geringer Anzahl zusammen mit Euglenen (meist *Euglena viridis*) vor. In dem Maße, als die Euglenen abstarben, traten die Astasien um so reichlicher auf. Das Material stammte aus einem Kanalabfluß in Ulmerfeld (N.-Ö.).

### Allgemeines über die Schleimkörperchen und Schleimemergenzen der Euglenen

Viele Euglenaceen sind befähigt, aus verschiedenem Anlaß Schleim zu produzieren. Bekannt sind die dicken, oft geschichteten Gallerthüllen von *Euglena viridis*. Manche Euglenen (z. B. *E. deses*) bilden während der Teilung eine lockere Schleimhülle aus. Andere Arten wieder vermögen auf Reize verschiedenster Art hin Schleimhüllen zu erzeugen. Die Schleimbildungen der Euglenen sind stets Ausscheidungsprodukte und keine Umwandlungsprodukte der peripheren Haut (Klebs 1885, S. 404). Deflandre (1952) betont, daß sich die Schleimausscheidungen der Euglenen nicht mit denselben Farbstoffen wie der Periplast anfärben. Sie können daher nicht dessen Bestandteile sein, sondern müssen akzessorische Hüllbildungen darstellen.

Hierher gehören vor allem die von A. P. Dangeard (1901) und Mainx (1927) als Schleimkörperchen beschriebenen, subpellicularen Gebilde sehr vieler Euglenen. Zuerst hat P. Dangeard (1928) auf die taxonomische Bedeutung dieser Gebilde hingewiesen, dann hat Chadeaud (1937) versucht, auf Grund ihrer verschiedenartigen Ausbildung die Arten *E. viridis*, *E. stellata*, *E. pseudoviridis* und *E. Schmitzii* zu unterscheiden. Gojdićs (1953, S. 11) schreibt, daß bei allen von ihr untersuchten Euglenen mit Ausnahme von *Euglena oxyuris* bei Zusatz von Neutralrot diese „subpellicular bodies“ nachzuweisen waren.

Die subpellicularen Körperchen wurden von verschiedenen Autoren unterschiedlich gedeutet. Hall (1931) betrachtete sie als Teile des Vakuoms, Baker (1933) hält sie für Volutinaggregate. Auch die Funktion von Trychocysten, vergleichbar mit denen der Ciliaten, wurde diesen Körper-

chen zugeschrieben (Chadefaud 1956). Gojdičs (1953, S. 12) berichtet in diesem Zusammenhang, daß sie niemals eine aus einzelnen Fäden entstehende Schleimhülle, wie das für die Wirkungsweise von Trichocysten typisch ist, bei den Euglenen beobachten konnte. Es sind stets nur homogene Hüllen um die Zellen vorzufinden. Desgleichen wendet sich Hollande (1942) gegen die Trichocystennatur der subpellicularen Körperchen. Er betrachtet diese Gebilde als Schleimorganellen, welche ihren Inhalt durch feine Poren in die Rillen der Pelliculastreifen sezernieren. Auch Gicklhorn (1921) vermutet, daß Schleim bei den Euglenen aus kleinen, zäpfchenförmigen Organellen, welche unter den Höckern der Pellicula liegen, hervorgestoßen wird.

Was den Mechanismus der Schleimabsonderung betrifft, so nehmen die meisten Autoren Poren in der Pellicula an, durch welche die Schleimsubstanz hervorgepreßt wird (vgl. Günther 1927, A. P. Dangeard 1901). Bei manchen Formen (*E. spirogyra*, *E. fusca* und manchen *Lepocinclis*-Arten) sind entlang der Membranstreifen Poren zu finden, durch welche Schleimsubstanz hervortreten kann, deren Ansammlung außerhalb des Zellkörpers zur Entstehung von Schleimhöckern führt (Deflandre 1931). Im Alter werden diese Höcker infolge Einlagerung von Eisenoxydhydrat vielfach spröde und fallen ab, so daß die Zelloberfläche unregelmäßig gefleckt erscheint. Dies ist zumal bei *Euglena spirogyra* und *E. fusca* häufig zu beobachten (Skujala 1948).

Bereits Klebs (1883) konnte zeigen, daß die Schleimfäden von *Euglena velata* aus besonderer, mit Karminessigsäure färbbaren, kugeligen Stellen des peripheren Cytoplasmas hervorgehen. Er fand, daß Ausscheidung von Schleim bei den Euglenen eine nur lebenden Zellen eigene Reizerscheinung ist. Als auslösende Reize werden u. a. schädliche Farbstofflösungen, Salzlösungen, Alkalien, Säuren und mechanische Reize genannt. Unschädliche Farbstoffe, wie Kongorot, Indigokarmin oder Nigrosin, rufen keine Gallertausscheidungen hervor. Klebs hat mit *Euglena sanguinea*, *E. velata* und *E. geniculata* gearbeitet.

Die Form der Schleimausscheidung ist bei den verschiedenen Arten verschieden und überdies von der Konzentration des Farbstoffes abhängig. *E. sanguinea* z. B. wird durch sehr verdünnte Methylenblaulösung zur Ausstoßung von Gallertfäden veranlaßt, welche sich zu einer netzförmigen Hülle um die Zelle vereinen. Bei rascher Wirkung des Farbstoffes nimmt die Gallerte die Form eines zierlich durchbrochenen Netzwerkes an. Bei ganz allmählichem Einwirken erfolgt dagegen eine unregelmäßige Ausscheidung von gefärbten Gallertstäbchen.

#### Die Schleimkörperchen im Vitalfärbeversuch

Für meine Versuche fand ich in *Euglena halophila*, *E. viridis* var. *mucosa*, *E. granulata* und *E. geniculata* dankbare Objekte für färberische Untersuchungen der Schleimorganellen.

Färbt man *E. geniculata* mit Neutralrot (1 : 10.000, pH 7,8), so werden nach ungefähr drei Minuten die rot gefärbten Stäbchen sichtbar. Sie liegen

vor der Hauptvakuole beiderseits des Schlundtrichters in größerer Anzahl nebeneinander. In den hinteren Zellregionen treten sie nur spärlich auf.

Um die Färbegrenze dieser Körperchen zu ermitteln, wurde ein Versuch mit pH-gestuftem Lösungsreihen von Neutralrot angestellt:

*E. geniculata*, mit Neutralrot 1 : 10.000 gefärbt:

pH 2,4: Nach 10 Minuten keine Färbung.

pH 3,1: Keine Färbung der Stäbchen.

pH 4,2: Nach 7 Minuten werden am Vorderende eine Anzahl rot gefärbter Stäbchen sichtbar. Ganz wenige solche Gebilde treten auch in der hinteren Zellregion auf.

pH 5,0: Stäbchen deutlich braunrot gefärbt.

pH 8,0: Nach 2 Minuten erscheinen die Schleimorganellen intensiv braunrot gefärbt. Viele Zellen schwärmen, wenige kriechen langsam vorwärts. Tröpfchenspeicherung im Plasma. Nach einer Stunde hat sich die Tröpfchenspeicherung bedeutend verstärkt, die Anzahl und Größe der Stäbchen ist gleich geblieben. Die Mehrzahl der Zellen bewegt sich kriechend vorwärts, wobei sie in typischer Weise tropfenförmige Gestalt annehmen.

In schöner Weise sind die Schleimorganellen an *E. viridis* var. *mucosa* darzustellen. Ein pH-gestuftem Reihenversuch mit Neutralrot ergab eine untere Färbegrenze um pH 4,0, ab pH 6,5 tritt überdies Tröpfchenspeicherung im Plasma auf. Nach zweitägigem Aufenthalt der Zellen in der Neutralrotlösung waren alle am Leben, die Stäbchen intensiv braunrot gefärbt (Abb. 1).

*Euglena granulata*, eine der von Klebs untersuchten, *E. velata* nahestehenden Form, ist durch den Besitz von Punktreihen, welche in Spiralförmigkeit dicht unter dem Periplasten verlaufen, gekennzeichnet. Diese Punktreihen sind ebenfalls Schleimorganellen und mit Neutralrot intensiv färbbar:

Im pH-gestuftem Reihenversuch ergab sich:

pH 2,5: Keine Färbung.

pH 3,1: Zarte Färbung des Periplasten, alles übrige ungefärbt.

pH 4,3: Nach 10 Minuten deutliche Färbung der spiraligen Punktreihen.

pH 6,5: Punktreihen nach 5 Minuten gefärbt. Außerdem spärliche Tröpfchenspeicherung an den Zellenden.

pH 8,2: Färbung der Punktreihen und Tröpfchenspeicherung.

Die untere Grenze der Färbbarkeit der Schleimkörperchen wurde in Neutralrot um pH 4,0 gefunden. Sie werden auch in saurer Lösung primär gefärbt. Es gelingt nicht, die Färbung mit  $\text{CaCl}_2$ -Lösung auszuwaschen.

An *Euglena halophila* wurden nach Färbung mit Brillantcresylblau 1 : 10.000, pH 8,0, unter der Körperhülle ebenfalls regelmäßig verteilte kugelige Körperchen festgestellt (Abb. 2). Dabei konnte ein unmittelbarer Zusammenhang zwischen den färbbaren „subpellicular bodies“ und der Schleimausscheidung beobachtet werden. Manche Zellen stießen durch den Reiz der Farblösung aus den kugeligen Schleimkörperchen zahlreiche Schleimfäden hervor (Abb. 3), welche im Verlaufe einer halben Stunde zu

einer homogenen Hülle um die Zellen zerflossen. Dieser Fall stellt sicherlich eine Ausnahme unter den Euglenen dar, ist aber gerade in Zusammenhang mit den Ausführungen von Gojdics (1953, S. 12), wonach sie bei ihren Untersuchungen derartiges nie beobachten konnte, um so bemerkenswerter.

Von Interesse waren Färbeversuche mit Rhodamin B, da dieser Farbstoff innerhalb der üblichen pH-Bereiche völlig undissoziiert ist. Eine Pufferung des Farbbades ist daher nicht notwendig. Der zeitliche Verlauf der Färbung ergab folgendes Bild:

*Euglena granulata*, gefärbt mit Rhodamin B 1 : 10.000, in Leitungswasser gelöst:

9<sup>h</sup> 10: Farblösung zugesetzt.

9<sup>h</sup> 15: Keine Färbung.

9<sup>h</sup> 25: Die peripheren Punktreihen zartrosa gefärbt.

9<sup>h</sup> 40: Punktreihen intensiv karminrot gefärbt, ansonsten keine Färbung.

9<sup>h</sup> 50: Punktreihen stark gefärbt, zarte Plasmafärbung.

Rhodamin B erwies sich zur Darstellung der Schleimorganellen sehr gut geeignet. Da Tröpfchenspeicherung mit Rhodamin B meist nicht auftritt, treten die gefärbten Schleimkörperchen um so deutlicher gefärbt zutage.

Die Feststellung von Gojdics (1953, S. 11), wonach die Schleimkörperchen selbst innerhalb ein und derselben Art nicht in konstanter

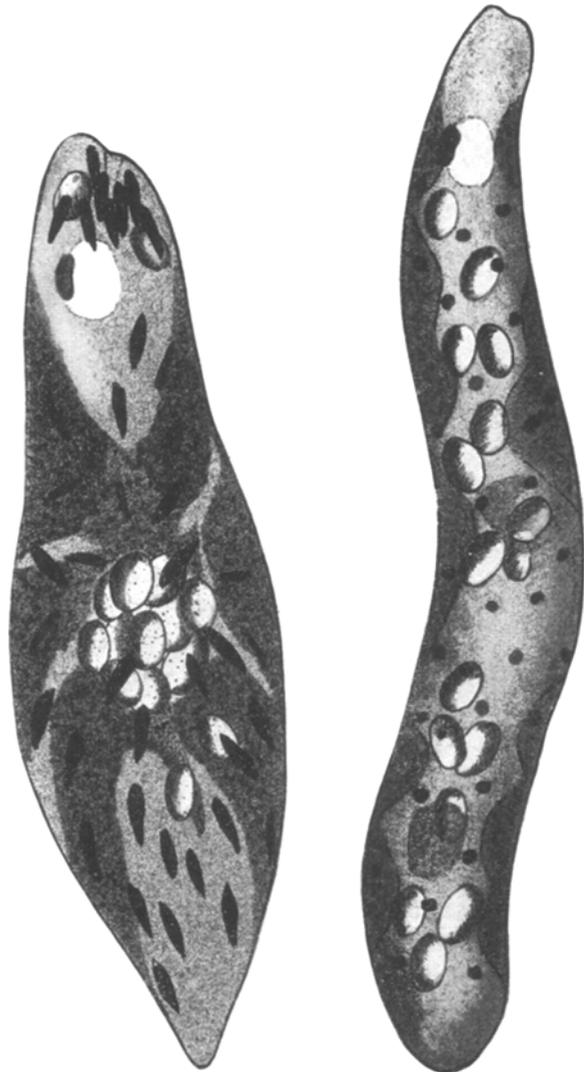


Abb. 1.

Abb. 2.

Abb. 1. *Euglena viridis* var. *mucosa* Lemm.: Neutralrotfärbung (1 : 10.000, pH 7,8). Die spindelförmigen Schleimkörperchen braunrot gefärbt.

Abb. 2. *Euglena halophila* Schiller: Brillantcresylblau 1 : 10.000, pH 8,0. Nach 5 Minuten Färbedauer treten unter dem Periplasten zahlreiche kugelige, rein blau gefärbte Schleimkörperchen zutage.

Anzahl anzutreffen sind, erinnert mich an eine Beobachtung, welche ich im Winter 1952/53 machte: Frisch gesammeltes Material — es handelte sich um *Euglena viridis* var. *mucosa* — mit Neutralrot gefärbt, zeigt die Schleimkörperchen regelmäßig und in relativ großer Menge in der Zelle verteilt. Wurde ein solcher Versuch nach ca. 5 Wochen angestellt und die Zellen demselben Kulturgefäß wie beim ersten Versuch entnommen, so waren bei einer größeren Anzahl von Zellen die Schleimkörperchen nur äußerst spärlich vorhanden. Es ist möglich, daß die Schleimschubstoffe dieser Zellen inzwischen zur Produktion von Schleimhüllen verwendet wurde (bereits D a n g e a r d 1901 vermutete, daß diese Schleimkörperchen die Substanz

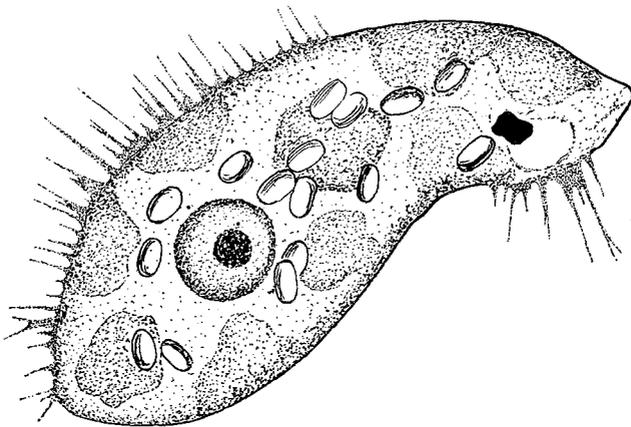


Abb. 3. *Euglena halophila* Schiller: Durch den Reiz einer Brillanteresyblaulösung (1 : 10.000, pH 8,0) hervorgestoßene Schleimfäden. Die Figur stellt ein Stadium kurz nach Zusatz der Farblösung dar. (Nach einer Photographie etwas schematisiert gezeichnet.)

für die Cysten der Euglenen liefern). Es ist in diesem Zusammenhang erwähnenswert, daß die Darstellung der Schleimkörperchen an Zellen, welche eben an der Oberfläche der Kulturgefäße Kahmhäute bilden, fast nie gelingt. Sicherlich wurde in so einem Fall die Substanz der Schleimkörperchen zur Bildung der Schleimhülle verbraucht.

Einige Versuche seien noch angeführt, welche sehr deutlich die periphere Lage der Schleimorganellen erkennen lassen.

Ich brachte Zellen, an welchen ich vorerst diese Gebilde mit Rhodamin B angefärbt hatte, in 0,7 Mol Traubenzucker ein. Nach kurzer Zeit schwillt die Hauptvakuole in bekannter Weise an. Durch die sich vergrößernde Vakuole werden das Plasma rund um die Vakuole sowie etwaige in dieser Gegend befindliche Paramylonkörner beiseite geschoben. Die Schleimorganellen erleiden durch die sich ausdehnende Hauptvakuole keine Lageveränderung. Auch nach Durchsaugen von Standortswasser, wobei die Anschwellung zurückgeht, verbleiben sie in ihrer ursprünglichen Lage. Die Schleimkörperchen sind also sichtlich außerhalb einer durch die anschwellende Hauptvakuole gelegenen Plasmaschicht gelegen.

Andere Verhältnisse finden wir an Zellen vor, welche durch den Farbstoff geschädigt oder getötet wurden. In deren Plasma findet man stets zahlreiche Vakuolen. Es fiel auf, daß diese Vakuolen während ihrer Entstehung die gefärbten Schleimorganellen vielfach beiseite schieben. Daraus läßt sich wohl folgendes schließen:

Bei Ausdehnung der Hauptvakuole im Hypertonikum — einem vitalen Vorgang — bleibt eine periphere Plasmaschicht unbewegt. In dieser sind offenbar die Schleimkörperchen gelegen. Sie erleiden daher keine Lageveränderung. Bei vakuoliger Degeneration wird auch dieses periphere Plasma (die kontraktile Wandplasmaschicht?) von der Vakuolisierung betroffen. Mit den sich ausdehnenden zahlreichen Vakuolen verändern auch die Schleimkörperchen passiv ihre Lage.

### Schleimausscheidung und Kriechbewegung

Die meisten Euglenen, besonders die stark metabolischen Formen, scheiden Schleim zu verschiedenen Zwecken aus. Günther (1927, S. 561) stellt fest, daß bei den schleimproduzierenden Euglenen zwischen Schleimabsonderung und Kriechbewegung eine unmittelbare Beziehung besteht. Er beobachtete an *E. terricola*, wie Bakterien, welche sich in unmittelbarer Nähe von kriechenden Euglenen befanden, plötzlich gegen das Zellende hin bewegt wurden. Er erklärt dies damit, daß im Periplasten sich wellenförmig nach hinten fortschreitende Kontraktionen vollziehen, um die Zelle vorwärts zu bewegen. Dadurch werden die im Bereich der Schleimausscheidung liegenden Bakterien nach hinten gerissen. Die Schleimausscheidung ist somit nicht unmittelbare Ursache für das Kriechen, sondern nur Voraussetzung für diese Art der Fortbewegung.

Nach Günther (1927, S. 562) wird der beim Kriechen produzierte Schleim durch feine Poren in der Pellicula ausgepreßt. Er sitzt dann in Form von Exkretperlen dem Periplasten auf.

Beobachtungen, welche ich während meiner Untersuchungen machen konnte, deuten darauf hin, daß dieser „Bewegungsschleim“ wahrscheinlich in Form feiner Fäden auf der Pellicula abgeschieden wird. Nun sind diese Fäden an unbehandelten Zellen nicht zu sehen. Wohl aber werden am Hinterende der Euglenen von Zeit zu Zeit Schleimklümpchen abgestoßen. Um die Vorgänge vom Auspressen der Schleimsubstanz bis zu deren Abstoßung in Form von Flocken genauer verfolgen zu können, habe ich die Zellen mit Vitalfarbstoffen behandelt.

Es lag auf der Hand, bei solchen Versuchen mit Euglenen, welche sich mit Vorliebe kriechend fortbewegen, zu arbeiten. Solche Arten sind z. B. *E. deses*, *E. granulata* und *E. halophila*. Der Farbstoff wird am besten nach einiger Zeit dem Präparat zugesetzt, nachdem alle Zellen sich abgesetzt haben und gleichmäßig kriechen.

Ich färbte *Euglena granulata* mit Neutralrot 1 : 10.000, in Leitungswasser gelöst. Sobald der Farbstoff zutritt, werden am Hinterende der Zellen rot gefärbte Flocken sichtbar. Die Schleimklümpchen erreichen eine bestimmte Größe und werden dann abgestoßen. Es dauert nun wieder einige Zeit

(20 bis 30 Sekunden), ehe von neuem solche sich allmählich vergrößernde Schleimflocken auftreten. Die abgestoßenen rot gefärbten Klümpchen begleiten die Kriechspur der *Euglena* (Abb. 5).

Ein pH-gestuftter Reihenversuch mit Neutralrot 1 : 10.000 ergab:

pH 3,1: Keine Färbung.

pH 4,5: Schleimklümpchen ungefärbt.

pH 6,2: Zarte Färbung der Schleimflocken nach 10 Minuten.

pH 7,5: Sofort nach Farbzusatz rote Schleimklümpchen am Hinterende sichtbar.

Der obige Versuch wurde mit *E. deses* und *E. halophila* wiederholt. Das Ergebnis war überraschend. An *Euglena deses* erscheinen die Schleimflocken in Neutralrot ebenfalls erst ab pH 6,5 deutlich gefärbt. Die analogen Bildungen von *E. halophila* färben sich dagegen schon ab pH 3,1. Bei Zusatz von  $\text{CaCl}_2$ -Lösung (0,2 molar) verschwindet an *E. halophila* die Färbung der Schleimflocken sofort. An *E. deses* und *E. granulata* wird sie wohl etwas blässer, bleibt aber stets erhalten.

Der Unterschied im Färbeverhalten dieser drei Arten trat deutlich nach Färbung mit Rhodamin B zutage. An *E. deses* und *E. granulata* erscheinen die Schleimklümpchen intensiv karminrot, an *E. halophila* bleiben sie dagegen ungefärbt.

Schon diese wenigen Beispiele zeigen, daß die Arten der Gattung *Euglena* sich keineswegs gleichmäßig verhalten. Es ist noch unklar, ob das unterschiedliche Färbeverhalten dieses „Bewegungsschleimes“ für einzelne Euglenen artspezifisch ist oder ob der chemisch-physikalische Zustand der Schleimsubstanzen unter gewissen Bedingungen verändert wird. Bei Färbeversuchen mit Cresylechtviolett konnte ich den in Zusammenhang mit der Kriechbewegung abgeschiedenen Schleim, noch ehe er abgestoßen wird, auf der Pellicula färben. Es erwies sich dabei am günstigsten, zu einem dünnen Präparat vom Deckglasrand her einen Tropfen Cresylechtviolett (10.000) zufließen zu lassen, wobei die Konzentration des Farbstoffes innerhalb des Präparates freilich unbekannt bleibt. Nach 10 bis 15 Minuten werden zwischen den Gyren (wie Pochmann 1955 die Membranstreifen benannt hat) tiefviolett gefärbte Fäden sichtbar. Einzelne kürzere Fadenstücke, bisweilen auch nur Punkte, verlaufen entlang einer Windung in unregelmäßigen Abständen. In gewissen Abständen werden diese Fäden von Schleimperlen unterbrochen, welche nach beiden Seiten hin entlang der Pelliculastreifung auseinanderfließen. Unterhalb dieser Schleimperlen liegen die Porenöffnungen der Pellicula, durch welche die Schleimsubstanz austritt (Abb. 5). Nun verlaufen die Pelliculastreifen ja sehr eng. Ich konnte beobachten, daß stets einige Gyren nicht von Schleim erfüllt waren. Die Entfernung von einer schleimführenden Rinne zur anderen schien stets konstant zu sein. Es ist in diesem Zusammenhang sehr interessant, daß Hollande (1945) an *Euglena splendens* in jeder fünften (!) Pellicularrinne Poren feststellte.

Die eben beschriebenen Schleimfäden lassen sich auch bei *Euglena deses*

und *E. gracilis* darstellen. Die Färbung trat auch hier erst nach Tötung der Zellen ein und erwies sich stets als salzfest. Mit anderen basischen Farbstoffen (Neutralrot, Brillanteresylblau, Rhodamin B) gelangen mir solche Färbungen nicht. Cresylechtviolett scheint dafür am besten geeignet zu sein.

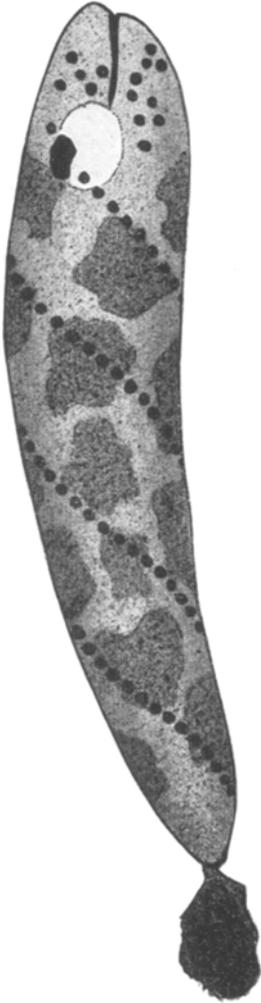


Abb. 4. *Euglena granulata* Klebs: Neutralrotfärbung (1 : 10.000, pH 7,8). Am Hinterende der Zellen werden von Zeit zu Zeit rot gefärbte Schleimklümpchen sichtbar. Überdies erscheinen die spiralig angeordneten, kugelförmigen Schleimkörperchen erdbeerrot gefärbt.



Abb. 5. *Euglena deses* Ehrenb.: Zelle durch Cresylechtviolett (1 : 10.000, pH 8,0) getötet, sog. halbentspannte Nekroseform (vgl. K. u. L. Höfler 1952, S. 95). Intensiv violett gefärbte Schleimfäden. Die tropfenförmigen Verdichtungen sind Schleimperlen, welche durch die darunterliegenden Poren der Pellicula ausgepreßt werden.

Durch die Färbung dieser Schleimfäden auf der Pellicula ist nun ein unmittelbarer Zusammenhang zu den beim Kriechen abgestoßenen Schleimklümpchen zu erkennen. Die Flocken entstehen sicherlich durch Zusammenfließen der feinen, zwischen den Gyren hervorgepreßten Schleimfäden.

Das unterschiedliche Färbeverhalten dieser Substanz möchte ich folgendermaßen erklären:

Die Schleimfäden sind nicht färbbar, solange sie sich auf der Pellicula der lebenden Zelle befinden. Die Substanz wird erst tingierbar, nachdem sie in Form von Flocken abgestoßen wird. Offenbar wird dieser „Bewegungsschleim“, nachdem er seine Funktion erfüllt hat, chemisch oder auch nur physikalisch verändert, solcherart, daß der Farbstoff nun gespeichert werden kann. Um die Schleimfäden direkt auf der Pellicula zu färben, muß die Zelle getötet werden. Es wäre freilich zu überlegen, ob beim Zelltod nicht etwa Stoffe austreten, welche die Substanz sekundär tingierbar machen könnten. Das erscheint insofern unwahrscheinlich, als ja auch an völlig intakten Zellen die Schleimflocken am Hinterende abgestoßen werden und sich anfärben. Man muß demnach annehmen, daß der „Bewegungsschleim“ gewisse physikalisch-chemische Veränderungen erfährt, sobald er seine Funktion erfüllt hat, und sodann abgestoßen wird. Vielleicht sind diese Veränderungen mit Koagulationserscheinungen vergleichbar.

### Metachromatische Färbepilder

Im Verlaufe meiner Vitalfärbestudien an Eugleninen fielen einige blaue basische Farbstoffe durch metachromatisches Färbevermögen auf. Ich möchte auf diese Erscheinungen kurz gesondert eingehen.

Die Tatsache, daß ein Farbstoff verschiedene Zell- und Gewebelemente in verschiedenem Farbton färben kann, ist seit Ehrlich (1877) bekannt. Mangin (1892) versucht auf Grund metachromatischer Färbungen Schlüsse auf den Chemismus der gefärbten Substanz zu ziehen. In neuerer Zeit haben Bank und Bungenberg (1939) und Spek (1940) die Metachromasieerscheinungen eingehend untersucht. Es ist heute bekannt, daß eine weit größere Anzahl von Stoffen als ehemals angenommen Metachromasieerreger sind. Endlich ist der Farbton auch von der Natur der Färbung (elektroadsorptive oder auf chemischer Bindung beruhende Färbung) abhängig (Kinzl 1952, S. 74).

Ich habe bei Vitalfärbung von Euglenen mit Brillantcresylblau, Toluidinblau, Thionin, Cresylechtviolett und auch Neutralrot metachromatische Färbungen beobachtet.

Der Periplast erscheint stets metachromatisch. Er nimmt an *Euglena halophila* mit Brillantcresylblau (pH 5,0) violette, mit Neutralrot (pH 4,0) rotviolette Färbung an. Nach Durchsaugen von 0,2 Mol CaCl<sub>2</sub>-Lösung verschwindet die Färbung des Periplasten stets.

Die Schleimorganellen färben sich einheitlich orthochromatisch, desgleichen die im Plasma auftretenden Farbstofftröpfchen, also rein blau mit Brillantcresylblau und erdbeerrot mit Neutralrot.

Schleimsubstanzen, welche von den Euglenen auf äußere Reize hin ausgestoßen werden, können nach Färbung verschiedene Farbtöne annehmen: Die aus den Schleimorganellen hervorgestoßenen Fäden färben sich orthochromatisch blau. Violett bis rotviolett dagegen erscheinen die am Hinterende abgestoßenen Schleimflocken, doch kommen auch rein blaue

Färbungen vor. Der abgestoßene Bewegungsschleim von *Euglena halophila* färbt sich in Brillantcresylblau rotviolett, in Toluidinblau und Thionin violett. Die Färbung verschwindet nach Durchsaugen von  $\text{CaCl}_2$ . Die analogen Gebilde von *Euglena deses* und *E. geniculata* färben sich mit den angeführten Farbstoffen rein blau. Die Färbung ist durch  $\text{CaCl}_2$  nicht auswaschbar.

Die in mancherlei Hinsicht interessante *Euglena halophila* bot nach Färbung mit Brillantcresylblau ein apartes Bild: Bisweilen sah man neben rein blau gefärbten, aus den peripheren Schleimorganellen hervorgesprossenen Fäden intensiv rotviolette Schleimklümpchen am Hinterende. Obwohl ich diese Erscheinung nur an dieser Art beobachten konnte, zeigt dies doch deutlich, daß der von der Zelle zu verschiedenen Zwecken ausgeschiedene Schleim sich färberisch unterscheidet.

Daß sich tote Protoplasten in der Regel orthochromatisch färben, konnte ich bestätigen. Solche Färbungen sind stets salzfest (Höfler und Stiegler 1947, Höfler und Schindler 1952).

An *Euglena granulata* färbt sich in Brillantcresylblau eine Plasmaschicht rund um den Schlundtrichter stark metachromatisch violett. Die Färbung ist auch mit starken  $\text{CaCl}_2$ -Lösungen nicht auswaschbar. An fixiertem Material konnte A. P. Dangeard an derselben *Euglena* eine starke Färbbarkeit dieser Schlundregion feststellen (S. 78. „... les parois du canal antérieur se colorent bien“).

Das durch sein stark metachromatisches Färbevermögen bekannte Cresylechtviolett (vgl. Höfler und Stiegler 1947, Stiegler 1952) wurde zur Darstellung des auf der Pellicula ausgeschiedenen „Bewegungsschleimes“ verwendet. An *Euglena granulata* traten dabei zweierlei Farbtöne nebeneinander auf: Die Schleimkörperchen färben sich blauviolett, die feinen Schleimfäden an der Zelloberfläche dagegen intensiv rotviolett an. Der Periplast erscheint zyklamenrot. Dieser ist durch  $\text{CaCl}_2$  entfärbbar, während die übrigen Zellelemente ihre Färbung behalten.

### Vitalfärbung und Metabolie

Die meisten Euglenen sind zu mehr oder minder starken metabolischen, d. h. die Zellgestalt dauernd verändernden Bewegungen befähigt. Verschiedenste Faktoren können für diese Vorgänge von Bedeutung sein. Szabados (1936) berichtet, daß die normalerweise wenig metabolische *Euglena acus* in Medien mit einem hohen Gehalt an organischen Stoffen äußerst starke metabolische Bewegungen auszuführen imstande ist (zitiert nach Gajdics 1953, S. 9).

Auch Farbstofflösungen können metabolische Bewegungen auslösen. Die Zellen geben dabei die Schwimmbewegung auf und bewegen sich nun kriechend unter dauernder Gestaltsveränderung vorwärts. Falls die Farbstofflösung nicht allzu schädigend wirkt, können die Zellen den Schock überwinden und wieder zu Schwärmen beginnen. In stärker schädigenden Medien werden die Zellen bald bewegungslos, sie leben aber in diesem Zustand noch längere Zeit weiter.

Gelegentlich fielen bei Färbeversuchen mit Brillanteresyblau die veränderten metabolischen Bewegungen von *Euglena halophila* auf. Wurden die Zellen mit Brillantresylblau 1 : 10.000, pH 8,0, gefärbt, so traten sofort intensiv metabolische Bewegungen auf, welche vom gewohnten Bewegungsbild abwichen. Kreiselförmige Bewegungsstadien, wie sie für diese Art ansonsten nicht typisch sind, waren häufig anzutreffen. Nach etwa 30 Sekunden färbt sich die Pellicula rotviolett an, desgleichen die Schleimklümpchen am Zellende. Nach ca. 15 Minuten werden die Bewegungen langsamer. Unter bandförmiger Abplattung und spiraler Verdrehung des Körpers quetschen sich die Zellen in der Mitte ab. Bald darauf erlischt die Metabolie. Im Zellinneren finden noch Plasmabewegungen statt. Durch die enge Stelle zwischen vorderer und hinterer Zellhälfte werden Paramyonkörnchen und Chloroplasten ruckartig durchgezängt. Nach geraumer Zeit erlahmen auch diese Bewegungen. Saugt man nun 0,2 molare  $\text{CaCl}_2$ -Lösung durch das Präparat, so verschwindet die Färbung der Pellicula, gleichzeitig werden die Zellen wieder beweglich, wobei die Einschnürung in der Mitte zurückgeht. Überdies schwillt die Hauptvakuole in bekannter Weise an.

Der Versuch wurde noch einige Male wiederholt, wobei die schon gemachten Beobachtungen sich bestätigten. In meinem Material blieben unter den zahlreichen gefärbten Zellen stets wenige aus unbekannter Ursache ungefärbt. Diese zeigten keine Einengung in der Zellmitte und blieben längere Zeit beweglich als die gefärbten Euglenen.

Es war nun zu entscheiden, ob das plötzliche Wiederaufleben der Metabolie durch Entfärbung der Pellicula ermöglicht wird, oder ob der osmotische Reiz der  $\text{CaCl}_2$ -Lösung sie verursacht. Zu diesem Zwecke wurden die Zellen mit 0,5 molarer Traubenzuckerlösung behandelt. Die Pellicula bleibt dabei gefärbt, da Traubenzucker ja kein Elektrolyt ist und daher auch keine adsorptionsverdrängende Wirkung hat. Es zeigte sich, daß die in der Farblösung erstarrten Euglenen nach Durchsaugen von Traubenzuckerlösung nicht wieder beweglich wurden. Das Wiederaufleben der Metabolie ist demnach nicht auf einen osmotischen Reiz zurückzuführen.

Schließlich wäre noch an eine spezifische metaboliauslösende Wirkung des  $\text{Ca}^{++}$ -Ions zu denken. Wie ein Versuch zeigt, tritt jedoch auch nach Entfärbung des Periplasten mit 0,3 Mol  $\text{KNO}_3$  Metabolie wieder ein.

In pH-gestuftten Lösungsreihen von Brillantresylblau fand ich die beschriebenen Erscheinungen an *Euglena halophila* von pH 3,1 bis pH 10, in Neutralrot zwischen pH 3,0 und pH 7,0. In elektroneutralen Farbstofflösungen, welche den Periplasten nicht elektroadsorptiv färben können (z. B. Neutralrot pH 8,2, Brillantresylblau pH 12,0 oder Rhodamin B), traten weder atypische Bewegungsbilder auf, noch quetschten sich die Zellen in der Mitte ab. Die metabolischen Bewegungen erstarben hier erst viel später, wenn eine Schädigung der Zellen durch den Farbstoff eintrat. Es ist also die elektroadsorptive Färbung des Periplasten für die atypischen Bewegungsbilder sowie für das frühe Erstarren der Zellen verantwortlich.

### Färbekrosen und Färberesistenz

Während meiner mehrjährigen Beschäftigung sind mir Nekrotestadien zahlreicher Euglenen vielfach begegnet. Die meisten Vitalfarbstoffe sind nämlich, wenn auch in verschiedenem Maße, giftig. Eine vitale Färbung ist daher nur bei einer entsprechenden Verdünnung und innerhalb einer bestimmten Färbedauer gewährleistet.

Die Euglenen sind im allgemeinen durch hohe Resistenz gegen lebensschädigende Stoffe ausgezeichnet. Sie sind auch weitgehend unempfindlich gegenüber Temperaturschwankungen, Säuren, Basen, Alkaloiden und giftigen Farbstofflösungen (Klebs 1885). Auch osmotische Schwankungen werden leicht überwunden (K. u. L. Höfler 1952, Hilmbauer 1954).

Die ersten sichtbaren Schädigungen durch Vitalfarbstoffe treten an den Chloroplasten auf. Ihre in normalem Zustand unscharfen Konturen neigen dann zu Abrundung und Zusammenballung. Solche Gestaltsveränderungen treten allgemein bei Zufuhr schädlicher oder auch bei Fehlen von unentbehrlichen Stoffen ein. Die Chloroplasten verharren in dieser Lage, solange die ungünstigen Verhältnisse andauern oder bis der schädliche Reiz überwunden ist (Senn 1908). Klebs (1885, S. 268) berichtet, daß eine 0,5- bis 1,0%ige Kochsalzlösung an *Euglena viridis* eine Kontraktion der Chloroplasten auslöst. Wurden die Euglenen in der Lösung belassen, so gingen nach einigen Tagen diese Veränderungen vollkommen zurück.

Die Form der Chloroplasten wird bisweilen sehr weitgehend verändert. Ich beobachtete *Euglena viridis*, wo der normalerweise sternförmige Chromatophor in einzelne spindelförmige bis elliptische Scheibchen aufgelöst erschien.

Eine Kontraktion der Chloroplasten durch Vitalfarbstoffe ist an Euglenen, soweit ich beobachten konnte, meist reversibel. Einfluß auf den Lebenszustand der Zellen haben diese Veränderungen keinen. Die Euglenen können in diesem Zustand sowohl schwärmende als auch metabolische Bewegungen ausführen und sind auch phototaktisch reizbar.

Ein Vitalfarbstoffen gegenüber sehr empfindliches Organell ist die Geißel. Falls sie nicht abgeworfen wird, fließt das äußere Geißelplasma an der Geißelspitze zusammen. Vielfach umwindet der Achsenfaden diesen Plasmotropfen (vgl. auch Mainx 1926, Günther 1927, Diskus 1954).

Ernsthafte Schädigungen der Zellen werden an der starken Färbung des Plasmas und der Chromatophoren deutlich. Im Plasma treten überdies zahlreiche Vakuolen auf, desgleichen erscheinen die Chloroplasten bei Schädigung häufig vakuolisiert.

Ein sicheres Zeichen des Färbetodes ist eine starke Färbung des Kernes, wobei der zentral gelegene Nukleolus besonders stark tingiert erscheint. In den Vakuolen oder auch im Plasma selbst sind zahlreiche in BMB befindliche Mikrosomen zu sehen.

Die Färberesistenz der Euglenen wurde an einer Anzahl von Arten untersucht. Sie ist meiner Erfahrung nach wohl in geringem Maße artspezifisch, mehr jedoch von den Standortsverschiedenheiten und dem Lebens-

zustande der Zellen abhängig. Die folgenden Beobachtungen mögen die Bedeutung dieser Faktoren veranschaulichen:

*Euglena viridis* wurde mit Brillanteresyblau 1 : 10.000, pH 10 gefärbt. In der Probe waren zwei Formen vorhanden: normale *E. viridis* und eine Form mit zahlreichen gefärbten Schleimkörperchen, wohl *E. viridis* var. *mucosa*. Es war eindrucksvoll zu sehen, wie nach ungefähr 40 Minuten alle Zellen von *Euglena viridis* mit tiefblau gefärbtem Zellinhalt tot im Präparat verstreut lagen, während die Form mit den gefärbten Schleimorganellen am Leben blieb und sich z. T. am Licht angesammelt hatte. Diese Zellen starben erst nach 2 Stunden.

Der Versuch verläuft in Farbstofflösungen von Neutralrot, Bismarckbraun, Rhodamin B relativ weniger eindrucksvoll. Da das gesellige Vorkommen beider Formen Standortverschiedenheiten ausschließt, ist in diesem Falle wohl eine spezifische Resistenz anzunehmen.

*Euglena viridis*, aus einer stark eutrophen Lacke stammend, erwies sich als wesentlich resistenter als Zellen aus relativ reinem Wasser. Ähnliches beobachtete ich wiederholt auch an anderen Arten. *E. geniculata* z. B. sammelte ich sowohl in eutrophen Salzlacken des Neusiedlersees als auch in einem Kanalausfluß in Ulmerfeld (N.-Ö.). Die Färberesistenz dieser Materialien war auffallend verschieden. In einer Lösung von Brillanteresyblau 1 : 10.000, pH 10, blieben die Euglenen aus den Salzlacken bis zu 20 Stunden am Leben, dieselbe Art aus dem Standort in Ulmerfeld ging schon nach 3 bis 4 Stunden zugrunde. Die in einem Sodatümpel bei Podersdorf am Neusiedlersee gefundene *Euglena halophila* blieb in derselben Farblösung bis zu 24 Stunden am Leben.

Diese wenigen Angaben zeigen schon, daß Untersuchungen über Resistenz von Euglenen nur bei gleichzeitiger Beachtung des Standortes von Wert sind. Bei Arten, welche so verschiedene Gewässer besiedeln wie etwa *Euglena geniculata*, bleibt überdies die Möglichkeit stets offen, es könnte sich um Standortvarietäten oder verschiedene Rassen handeln. In diesem Sinne sind auch die Angaben der folgenden Tabelle zu verstehen. Sie besagen, nach welcher Zeit mehr als die Hälfte aller Zellen getötet wurde.

	Brillanteresyblau		
	Neutralrot 1 : 10.000, pH 8	1 : 10.000, pH 10	Rhodamin B 1 : 10.000
<i>Euglena viridis</i> (Regenlacke) . . . . .	20 Std.	30 Min.	24 Std.
<i>Euglena viridis</i> (Jauchegrube) . . . . .	48 Std.	1 Std.	50 Std.
<i>Euglena geniculata</i> (Salzlacke) . . . . .	100 Std.	20 Std.	100 Std.
<i>Euglena halophila</i> (Sodatümpel) . . . . .	100 Std.	24 Std.	120 Std.
<i>Euglena deses</i> (Straßengraben) . . . . .	48 Std.	40 Min.	24—36 Std.
<i>Euglena gracilis</i> (Teich mit faulenden Pflanzen) . . . . .	15—20 Std.	20 Min.	24 Std.
<i>Euglena spirogyra</i> (Weidetümpel) . . . . .	36 Std.	3 Std.	36 Std.
<i>Phacus pleuronectes</i> (Jauchepfütze) . . . . .	48 Std.	4—5 Std.	24 Std.
<i>Phacus pyrum</i> (Neusiedlersee) . . . . .	24 Std.	2 Std.	48 Std.
<i>Astasia ocellata</i> (Kanalausfluß) . . . . .	1 Std.	15 Min.	2 Std.

Diese Angaben wurden durch Versuche an frisch gesammelten Materialien gewonnen. Zellen aus alternden Kulturen waren in der Regel empfindlicher.

Neben der schädigenden Wirkung des Farbstoffes blieb noch der Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration zu untersuchen. Es zeigte sich, daß die Zellen in allen pH-Bereichen gut weiterkamen. Auch die reinen Phosphatpufferstammlösungen (1/15 molar) werden gut vertragen. Für Resistenzversuche in Farblösungen ist jedoch das pH der Lösung von großer Bedeutung, wie folgende Versuche zeigen:

In Brillantcresylblau 1 : 10.000, pH 3,0, lebt dieselbe *Euglena viridis*, welche in pH 10,0 nach 45 Minuten getötet wurde, 4–5 Stunden ohne Schaden weiter. Ebenso bleibt Neutralrot 1 : 10.000, pH 4,0, für *Astasia ocellata* 4–5 Stunden ohne schädigende Wirkung, während bei pH 8,0 nach einstündiger Färbedauer mehr als die Hälfte aller Zellen tot war.

Die weit geringere Todesrate im sauren Farbbad dürfte mit dem Lösungszustand der Farbstoffe zusammenhängen, denn im alkalischen Bereich liegen, wie bekannt, Neutralrot und auch Brillantcresylblau in molekularer Lösung vor. Die Farbbasenmoleküle können in das Plasma eindringen und nach entsprechender Zeit die Zellen eben schädigen und töten. Im sauren Bereich, etwa um pH 3,0, sind nur Ionen in Lösung. Diese können nur außerhalb des Plasmas gelegene Zellteile, welche für das Leben der Zelle weniger Bedeutung haben (Zellwände, Gallerten), anfärben. Der Weg in das Plasma ist den Ionen verwehrt. Diese Überlegung macht die Abhängigkeit zwischen Färberesistenz und dem Lösungszustand des jeweiligen Farbbades wohl unmittelbar verständlich.

### Zusammenfassung und Besprechung

An den Schleimkörperchen verschiedener Euglenen wurde in pH-gestuftem Farbbad eine untere Färbegrenze in Neutralrot um pH 4,0 ermittelt. Es ist bemerkenswert, daß diese Gebilde also auch in saurer Lösung (in welcher die meisten basischen Vitalfarbstoffe in ionisierter Form vorliegen) Farbstoffe speichern. Die Färbung der Schleimorganellen ist mit Salzlösungen nicht auswaschbar.

Bei *Euglena halophila* wurde der seltene Fall einer spontanen Ausstoßung von Schleimfäden, welche allmählich zu einer homogenen Hülle um die Zelle zerflossen, beobachtet. Hervorgerufen wurden diese Schleimfäden durch den Reiz einer Brillantcresylblaulösung 1 : 10.000, pH 8,0.

Kriechende Euglenen scheiden beim Dahingleiten auf dem Substrat Schleim in Form von dünnen Fäden, welche die Rillen der Pelliculastreifen entlang fließen, ab. Durch Zusammenfließen dieser Fäden entstehen am Hinterende der kriechenden Zellen Schleimflocken. Diese sind mit allen angeführten basischen Vitalfarbstoffen färbbar, die Darstellung der Schleimfäden auf der Pellicula gelang mir jedoch nur mit Cresylechtviolett, und auch hier erst in letalem Zustand der Zellen. Der „Bewegungsschleim“ ist also anfangs nicht färbbar. Erst später, wenn die Substanz am Hinterende der kriechenden *Euglena* zurückbleibt, wird sie tingierbar. Es beruht

dies offenbar auf einer sekundären chemisch-physikalischen Veränderung des Schleimes, möglicherweise sind auch noch Koagulationsvorgänge daran beteiligt.

Häufig wurden bei Vitalfärbung an Euglenen metachromatische Farbtöne beobachtet. Solche Färbungen waren in der Regel durch  $\text{CaCl}_2$ -Lösung auswaschbar. Orthochromatische Färbungen erwiesen sich stets als salzfest. In einigen Fällen waren auch metachromatische Färbungen durch Salzlösungen nicht auswaschbar, wie die Färbung des Schlundkanals an *Euglena granulata*.

Deutlich ließ sich beobachten, daß ionisierte Farbstofflösungen die Fähigkeit der Zellen zu formverändernden Bewegungen stark beeinflussen können. Diese Erscheinung steht, soweit aus den Versuchen zu erkennen war, mit der elektroadsorptiven Bindung der Farbkationen an den Periplasten in Verbindung. Durch diesen Färbvorgang werden jedoch lediglich die metabolischen Bewegungen gehemmt, während die inneren Plasmabewegungen nicht beeinflußt erscheinen, ein Hinweis darauf, daß Metabolie und innere Plasmabewegung zwei voneinander unabhängige Vorgänge sind (vgl. Klebs 1883 a, S. 258). Für die metabolischen Bewegungen ist die kontraktile Wandplasmanschicht des Periplasten zuständig, während die inneren Plasmabewegungen im Cytoplasma selbst vor sich gehen. Die Farbkationen können nur zum Periplasten Zutritt finden und daher nur die metabolischen Bewegungen beeinflussen.

Die höhere Resistenz bzw. längere Lebensdauer der Euglenen in pH-Stufen, wo die Farblösung in ionisierter Form vorliegt, steht damit gut in Einklang. Wir sehen bestätigt, daß die Farbkationen weniger schädigen als die permeierfähigen Farbbasenmoleküle.

#### Literatur

- Baker, C. L., 1955: Studies on the cytoplasmatic components of *Euglena gracilis* Klebs. Arch. Protistenk. 80, 454.
- Bank, O., und H. G. Bungenberg de Jong, 1959: Untersuchungen über Metachromasien. Protoplasma 52, 449.
- Chadefaud, M., 1954: Les corps mucifères et les trichocystes des Eugléniens et des Chloromonadines. Bull. Soc. Bot. de France 81, 106.
- 1956: Protistes trichocystifères ou Protogastréades. Ann. Protistol. (Fr.) 5, 525.
- Dangeard, A. P., 1902: Recherches sur les Eugléniens. Le Botaniste 8.
- Deflandre, G., 1951: Sur la structure de la membrane chez quelques *Phacus*. Ann. Protistol. (Fr.) 5 (2—5), 41.
- Diskus, A., 1953: Zum Osmoseverhalten halophiler Euglenen vom Neusiedlersee. Sber. Österr. Akad. Wiss., math.-naturw. Kl., Abt. I, 162, 171.
- 1954: Vitalfärbestudien an Euglenaceen. Protoplasma 44, 194.
- Gieckhorn, J., 1921: Eine einfache Methode zur Darstellung der Geißel mit Basalkorn bei Flagellaten. Z. Mikrosk. 38, 125.
- Günther, F., 1927: Über den Bau und die Lebensweise der Euglenen. Arch. Protistenk. 60, 511.
- Gojdics, M., 1955: The Genus *Euglena*. Madison. The University of Wisconsin Press.

- Hall, S. R., 1951: Observations on *Euglena leucops* n. sp., a parasite of *Stenostomum* with special reference to nuclear division. Biol. Bull. (Am.) 60, 527.
- Hamburger, C., 1911: Studien über *Euglena Ehrenbergii*, insbesondere über die Körperhülle. S.ber. Heidelb. Akad. Wiss. 4, 1.
- Hilmbauer, K., 1954: Zellphysiologische Studien an Euglenaceen, besonders an *Trachelomonas*. Protoplasma 45, 190.
- Höfler, K. und L., 1952: Osmoseverhalten und Nekroseformen von *Euglena*. Protoplasma 41, 76.
- und H. Schindler, 1952: Algengallerten im Vitalfärbeversuch. Österr. Bot. Z. 99, 529.
- und A. Stiegler, 1947: Cresylechtviolett als Vitalfarbstoff. Mikroskopie 2, 250.
- Hollande, A., 1942: Étude cytologique et biologique de quelques Flagellés libres. Arch. Zool. Exptl. et Gén. 83, 1.
- Kinzel, H., 1952: Untersuchungen über die Chemie und Physikochemie der Gallertbildungen von Süßwasseralgen. Österr. Bot. Z. 100, 25.
- Klebs, G., 1885 a: Über die Organisation einiger Flagellatengruppen und ihre Beziehung zu Algen und Infusorien. Unters. Bot. Inst. Tübingen 1, 253.
- 1885 b: Über die Organisation der Gallerte bei einigen Algen und Flagellaten. Ebenda 2, 355.
- Mainx, F., 1927: Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Euglenen. Arch. Protistenk. 60, 505.
- Pochmann, A., 1955: Struktur, Wachstum und Teilung der Körperhülle bei den Eugleninen. Planta 42, 478.
- Senn, G., 1908: Die Gestalts- und Lageveränderungen der Pflanzenchromatophoren. Leipzig.
- Skuja, H., 1948: Taxonomie des Phytoplanktons einiger Seen in Uppland, Schweden. Symb. Bot. Upsal. Ser. IV, Vol. 14.
- Spek, J., 1940: Metachromasie und Vitalfärbung mit pH-Indikatoren. Protoplasma 34, 555.
- Stiegler, A., 1950: Vitalfärbungen an Pflanzenzellen mit Cresylechtviolett. Protoplasma 39, 495.
- Szabados, M., 1956: *Euglena* Vizsgálatok (*Euglena*-Untersuchungen). Acta Biol. Szeged 4, 49.