

# INHALT.

	Seite
§ 1. Einleitung .....	139
§ 2. Umschreibung des Zieles. ....	140
§ 3. Übersicht über die älteren Apparate .....	148
§ 4. Ein neuer „Heizschrank“ .....	153
§ 5. Ansätze zur Konstruktion eines „Mikrothermostaten“ .....	160
§ 6. Die Versuchstechnik .....	166
§ 7. Beobachtungsergebnisse .....	171
§ 8. Zusammenfassung.....	182

---

# Ein Mikrothermostat zum Studium der Protoplasmaströmung.

Von

C. P. Cohen Stuart.

## § 1. Einleitung.

Zwecks einer Prüfung der von mir<sup>1</sup> vorgebrachten Prinzipien der Temperatureinwirkung auf physiologische Prozesse, wobei sich die besondere Wichtigkeit der Untersuchung von Prozessen mit hohen Temperaturkoeffizienten ergab, unternahm ich im Sommer 1912 das Studium des Einflusses der Temperatur auf die Protoplasmaströmung. Diese Untersuchungen wurden, teilweise wegen zunehmender Schwierigkeiten beim Eintritte der kalten Jahreszeit, Ende 1912 abgebrochen, und Anfang 1913 begab ich mich für zwei Jahre nach Java. Im April 1915 nahm ich, in Holland zurückgekehrt, das Experiment wieder auf und ich habe versucht, diesmal bessere Resultate zu bekommen, aber wiederum vergebens. Ich habe schließlich, wegen Rückkehr nach Java, die Untersuchung endgültig aufgegeben.

Vielleicht jedoch, daß die Veröffentlichung meiner Methoden, so vieles Mißgeschick sie mir verursacht haben, anderen Forschern von Nutzen sein kann.

Zu herzlichstem Danke bin ich Herrn Prof. Dr. F. A. F. C. Went verpflichtet, der nicht nur die Anfertigung eines kostspieligen Heizschrankes gestattete, sondern mir stets durch wohlwollenden Rat und wertvolle Anregungen behilflich gewesen ist. Auch Herrn Hortulanus J. K. Budde möchte ich an dieser Stelle danken für die gute Pflege meiner *Trianea*-Kulturen.

<sup>1</sup> Proc. R. Acad. of Sc. Amsterdam, 26 April 1912, S. 1159.

## § 2. Umschreibung des Zieles.

In meiner oben zitierten Abhandlung habe ich die Bedeutung des Blackman'schen Prinzips für die Erklärung der Erscheinungen bei der Einwirkung verschiedener Temperaturen auf die Lebensprozesse einer eingehenden Betrachtung unterzogen. Auch aus einem Gesichtspunkte der Methodik haben die Arbeiten Blackman's eine große Bedeutung, und zwar, in der richtigen Würdigung des Zeitfaktors bei der Untersuchung des progressiv schädlichen Einflusses höherer Temperaturen auf den Organismus.

Ich glaube, daß eine wirklich moderne Untersuchung nach diesem Einfluß sich in den Hauptlinien nach dem Blackman'schen Schema richten muß: 1. der Einfluß jedes Temperaturgrades soll nach regelmäßigen Zeitintervallen bei konstanter Temperatur festgestellt werden, 2. die nämliche Versuchsserie soll bei verschiedenen Temperaturen — und zwar, wie ich in meiner oben angeführten Arbeit zeigte — in regelmäßigen Temperaturintervallen<sup>1</sup> (von 1 bis 50° C) mit Inbegriff der unteren und oberen Temperaturgrenzen des betr. Lebensvorganges. Nur so, regelmäßig fortschreitend, kann man das ganze Variationsgebiet der beiden unabhängigen Variablen: Temperatur und Zeit, analysieren und der theoretischen Interpretierung zugänglich machen.

Auf diesem Prinzip Blackman's fußen die Experimentaluntersuchungen über Temperatureinwirkung aus dem Utrechter botanischen Institut von Kuyper, Rutgers, Marie de Vries und Elise Talma<sup>2</sup>. Auch das Studium der Protoplasma-Strömung kann, um neue Resultate zu ergeben, nur in dieser Weise angegriffen werden. Denn die Untersuchungen von Nägeli, Velten und Ewart haben uns über die wesentlichen Eigentümlichkeiten dieses Lebensprozesses hinreichend aufgeklärt; sie sind aber sicher nicht genügend im Sinne Blackman's.

<sup>1</sup> A. a. O., S. 1164.

<sup>2</sup> J. Kuyper, *Recueil d. trav. bot. néerl.* VII (1910), S. 1.

A. A. L. Rutgers, *ebendas.* IX (1912), S. 1.

M. S. de Vries, *ebendas.* XI (1914), S. 195.

E. G. C. Talma, *ebendas.* XV (1918), S. 366.

Die zwei erstgenannten Forscher maßen die Geschwindigkeit des Protoplasma bei verschiedenen Temperaturen in dieser Weise, daß sie die Objekte in schmelzendem Eis unter das Mikroskop brachten und dann das Medium sehr gelinde erwärmten bis zum Eintritt der Wärmestarre; die während der Erhitzung durchlaufenen Geschwindigkeitsgrade des Protoplasma galten für die den zugehörigen Temperaturen wirklich entsprechenden. Es ist aber klar, daß diese mit ganz willkürlicher Geschwindigkeit durchlaufene Temperaturen-Reihe unmöglich genau den eigenartigen Nachwirkungserscheinungen des Protoplasma gerecht werden konnte, und daß damit zugleich die oben erwähnte Anforderung, nämlich eine sorgfältige methodische Bestimmung aller Punkte des ganzen Temperatur-Zeit-Feldes nicht erfüllt worden war, und sogar nicht erfüllt werden konnte. Einen bedeutenden Fortschritt findet man allerdings in Ewart's Versuchen, der auch die Versuchsdauer berücksichtigte, jedoch nicht in dem Grade, und auch technisch nicht mit der Genauigkeit, wie sie das Blackman'sche Schema erfordert.

Eine neue Experimentaluntersuchung mit neuen Methoden war also geboten, um dieses, für das kolloidchemische Verständnis des Protoplasma so viel versprechende, zellphysiologische Problem der Lösung näher zu bringen.

1. Das Objekt. Seit den neunziger Jahren weiß man<sup>1</sup>, daß die Protoplasmaströmung bei vielen Objekten erst durch Verwundung hervorgerufen wird, so daß Objekte, wo sie im unversehrten Zustande beobachtet werden kann, zu bevorzugen sind. Objekte wie *Vallisneria* und *Elodea* sind also von vornherein auszuschneiden, weil sie ein an sich noch sehr dunkles Element in das Spiel bringen. Dasselbe gilt für solche Objekte, die, wie die Staubfädenhaare von *Tradescantia*, unter normalen Umständen von Luft umgeben sind, und in Wasser nach längerem Aufenthalt (wie es das Studium bei konstanter Temperatur erheischt) irgendwie geschädigt werden könnten. Dazu ist die Rotationsbewegung wegen ihrer größeren Regelmäßigkeit der Zirkulation vorzuziehen, die letztere erfolgt ja nicht in einer optischen Ebene wie die erstere; und die unregel-

<sup>1</sup> Zuerst durch J. A. Keller, Inaug. Diss. Zürich, 1890.

mäßigen Strömungen der Pilz-Mycelien und der *Myomyceten*-Plasmodien<sup>1</sup> sind a fortiori auszuschließen.

Die Anzahl der Objekte wird durch diese Bedingungen äußerst stark beschränkt. Nur Wurzelhaare, besonders jene der *Hydrocharitaceen*, liefern geeignetes Versuchsmaterial, und nicht einmal alle Wurzelhaare. Die Untersuchungen von Schwarz<sup>2</sup> haben bewiesen, daß die meisten Keimpflanzen wohl in Erde oder feuchter Luft, nicht aber in flüssigen Medien Wurzelhaare treiben, und wenn auch nach neueren Experimenten, wie Hansteen's<sup>3</sup>, geeignete Salzlösungen die Wurzelhaarbildung nicht stören, so sind doch Objekte, die in reinem Wasser nicht geschädigt werden, entschieden zu bevorzugen, der Einfachheit der Versuchstechnik halber. Das sind aber nur ganz wenige Wasserpflanzen; soweit ich weiß, nur die genannten *Hydrocharitaceen*: *Hydrocharis*, die zwar den Vorzug hat, einheimisch zu sein, aber im Winter nicht zu finden ist und überhaupt von den Launen des Wetters und anderen zufälligen Umständen abhängt; und *Trianea bogotensis* Karst, (systematisch richtiger: *Hydromystria stolonifera* G. F. W. Meyer), das in allen Gewächshäusern vorkommende, seit Pfeffer (1891) für zellphysiologische Untersuchungen sehr beliebte Objekt. Nach einer Prüfung einer Anzahl von Keimpflanzen in Wasserkultur, wobei ich Schwarzens Angaben bestätigen konnte, und nur in *Avena sativa* ein unter Umständen brauchbares Objekt fand<sup>4</sup>, entschloß ich mich für *Trianea*. Auf die Kultur dieser Pflanze, sowie auf die von *Avena*, komme ich unten zurück.

Ich habe natürlich auch der *Characeen* gedacht, und mit *Nitellä syncarpa* vorläufige Versuche angestellt; aber wie schön dieses Objekt auch ist, es ist ebensowenig wie *Hydrocharis* das

<sup>1</sup> Siehe z. B. A. Schröter, Flora XCV (Erg.bd. 1905), p. 1; V. Vouk, Denkschr. Akad. Wien, Math.-naturw. Kl. LXXXVIII (1912), S. 653.

<sup>2</sup> F. Schwarz, Unters. a. d. bot. Inst. Tübingen, I (1883), p. 135. Vgl. G. L. Bushee, Bot. Gaz. XLVI (1908), p. 50.

<sup>3</sup> B. Hansteen, Jahrb. f. wiss. Bot. XLVII (1910), S. 289.

<sup>4</sup> G. L. Bushee, a. a. O.

ganze Jahr erhältlich. Zwar gibt Migula<sup>1</sup> eine Methode zum Treiben der *Characeen* aus ihren Sporen an, es ist mir jedoch nicht gelungen dieses fertig zu bringen. Und indem die Fundstätten anscheinend nicht konstant sind, ist dieses Material für längere Versuche nicht sehr geeignet.

2. Die Fragestellung. Das Blackman'sche Schema, wie es von Miss Matthaei und den Utrechter Forschern auf fünf Lebensprozesse bezogen worden ist und von Frl. van Amstel<sup>2</sup> in vollendetster Weise ausgearbeitet wurde, ist nicht ohne weiteres auf die Protoplasmaströmung anwendbar; die Natur dieses Gegenstandes erfordert eine wesentliche Änderung in der Versuchsanordnung, wie unschwer einzusehen ist. Die Kohlensäureabgabe von Keimpflanzen (Kuyper), die geotropische (Rutgers) und phototropische (Frl. de Vries) Empfindlichkeit von Keimpflanzen, das Wachstum von Wurzeln (Frl. Talma), das sind ja Gegenstände, deren Verlauf sich zwar im Prinzip auch am einzelnen Individuum hinreichend exakt feststellen ließe, aber bei verschiedenen Individuen verschiedene absolute Zahlen ergeben würde. Man greift hier also, um dennoch für jede Temperatur absolute Ziffern zu erhalten, zur statistischen Methode, und zieht das Mittel aus vielen Einzelbeobachtungen. Man bekommt somit immer Durchschnittsergebnisse, die individuellen Abweichungen werden ausgeglichen, und bei einiger Sorgfalt gelingt es, bei der Wiederholung eines Versuches gut übereinstimmende Zahlen zu erhalten: also jede hundert Erbsenkeimlinge liefern die gleiche Totalmenge CO<sub>2</sub> bei 30° und hätten eine ganz bestimmte Menge bei 20° ausgeatmet. Man kann dann aus mehreren Versuchen das Mittel der beobachteten absoluten Größen nehmen.

<sup>1</sup> W. Migula, Die Characeen Deutschlands, Österreichs und der Schweiz. (In Rabenhorst's Kryptogamenflora V, 1897.) S. 74.

<sup>2</sup> J. E. van Amstel, De temperatuursinvloed op physiologische processen der alcoholgist. Diss. Delft, 1912.

Ich möchte besonders hervorheben, daß Frl. van Amstel die Notwendigkeit, Anfangsgeschwindigkeiten zu bestimmen, stark betont hat; ich glaube, zu Recht.

Ganz anders bei der Protoplasmabewegung. Man beobachtet hier eine einzelne Pflanze unter dem Mikroskop, von dieser Pflanze eine einzelne Wurzel, von dieser Wurzel eine schmale Zone, von einem oder zwei Wurzelhaaren eine kurze Strecke. Es leuchtet ein, daß man Messungen solcher Art (auch jeder anderen zellphysiologischen Beobachtung, wenn es nicht zufälligerweise ein so konstantes und vielzelliges Objekt gilt wie Hugo de Vries' *Tradescantia*-Oberhautzellen), irgendwelche Allgemeingültigkeit ab sprechen muß und sie nicht zu Durchschnittszahlen vereinigen darf. Das Alter des Materials, das bei den obengenannten Keimlingen in engen Grenzen konstant zu halten ist, ist bei *Trianea*-Pflänzchen unkontrollierbar; das Pflänzchen selbst ist einige Zeit vorher vegetativ aus einem anderen entstanden, aber dieses „Alter“ sagt nichts aus über das Alter der beobachteten Wurzel, und a fortiori nicht über den Alterszustand des Haares. Kurz: zwei Versuche sind hier nicht vergleichbar. Ohne Vergleichung sind aber die Messungen bei verschiedenen Temperaturen wertlos, man soll ja die Temperaturkoeffizienten (oder, was auf dasselbe hinauskommt, die Geschwindigkeitskurve) bestimmen. Hier muß man also immer zwei Versuche am selben Objekt anstellen; man muß eine Normaltemperatur annehmen, auf welche alle Messungen bezogen werden; jedem Versuche bei höherer oder niedriger Temperatur muß man eine Messung bei der Normaltemperatur voranschicken: man bekommt nur relative Zahlen. Inwiefern diese relativen Zahlen (z. B. der Temperaturkoeffizient  $\frac{30^0}{20^0}$ ) bei allen Wurzelhaaren übereinstimmen — ein sehr fraglicher Punkt! —, das muß durch spezielle Voruntersuchungen entschieden werden<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Einige der in § 7 enthaltenen Versuche deuten tatsächlich in diese Richtung.

Die relativen Geschwindigkeiten für 20°, 25°, 30° usw. wären etwa nach folgendem Schema zu bestimmen (vgl. § 7):

20 — 30 — 20

25 — 30 — 25

20 — 35 — 20

25 — 35 — 25

30 — 35 — 30 usw.

3. Die Methode. Aus obigen Betrachtungen geht hervor, daß ein Apparat zur genauen Konstanterhaltung der Temperaturen zwischen 0 und 50° C nicht genügt; man kann nicht, wie an einem gewöhnlichen Thermostaten, die gewünschte Temperatur einstellen und die Wahrnehmung beginnen. Man hat vielmehr den Temperaturänderungen größere Aufmerksamkeit zuzuwenden, ohne die Konstanz zu verringern. Nach der Messung der Strömungsgeschwindigkeit bei der Normaltemperatur soll der Apparat schnell auf die Versuchstemperatur gebracht werden können und daselbst während der ganzen Versuchsdauer automatisch verharren, um dann wiederum zur Kontrolle auf die Normaltemperatur zurückgeführt zu werden. Leichte, sichere Einstellung der verlangten Temperatur und empfindliche Regulierung für jeden beliebigen Wärmegrad sind Hauptbedingungen für diesen Mikrothermostat.

Mehrere Bedingungen gesellen sich zu den schon genannten. Es genügt nicht, daß die Temperatur genau konstant und leicht regulierbar ist, selbstverständlich muß sie auch jederzeit genau bekannt sein. Ältere Apparate genügen dieser Anforderung bei weitem nicht, wie wir weiter unten sehen werden, und sie gestatten nur die Ablesung der Temperatur der Luft in der Nähe des Objektes; aber Objektisch und Objektiv einerseits, das verdampfende Medium des Objektes andererseits, verursachen grobe Fehler in der Temperaturmessung. Demgegenüber muß man entschieden festhalten an der Bedingung, daß die Temperatur des Mediums gemessen werden soll, damit man die Temperatur des Objektes ihr annähernd gleich stellen kann.

Angeichts des störenden Einflusses des Objektivs und des Objektisches bei Temperaturwechsel (bei Abkühlung verursachen sie Erwärmung, bei Erwärmung Abkühlung<sup>1</sup>) muß man darauf bedacht sein, diesen Einfluß nach Möglichkeit auszuschalten, z. B. durch Miterwärmung bzw. Abkühlung des Mikroskopes. Auch des lästigen Beschlagens der Linsen wegen, bei schroffem Temperaturwechsel, ist diese Methode von Vorteil. Weil aber der Kitt der Linsen schon bei relativ niedrigen Temperaturen schmilzt (die Firma Zeiß be-

<sup>1</sup> Th. W. Engelmann, Arch. f. mikr. Anat. IV (1868), S. 324.



richtete mir, daß ihre Mikroskope längere Zeit auf 45° C, vorübergehend auf 50° C erhitzt werden können), die Literaturangaben aber, wie unten erwähnt werden soll, auf größere Resistenz bei kurz-dauernder Erwärmung deuten, so muß man auf das Versagen der Methode in diesem Temperaturgebiete gefaßt sein.

Benutzung von Leuchtgas für die Heizung ist wegen seiner Giftigkeit zu meiden; das Objekt soll überhaupt so viel wie möglich unter natürlichen Bedingungen untersucht werden. Es wird sich ergeben, daß meine Versuche eben an dieser Anforderung gescheitert sind.

4. Die angestrebte Leistungsfähigkeit. Temperaturkonstanz und schneller Temperaturwechsel sind also die beiden, gewissermaßen antipodalen Anforderungen, die an die Apparatur gestellt werden. Vergewärtigen wir uns einmal, welche Leistungen wir nach beiden Richtungen hin zu verlangen haben.

Zuerst die Temperaturkonstanz. Meiner Erfahrung gemäß ist der mittlere Fehler, der den Geschwindigkeitsmessungen bei Protoplasmaströmung bei annähernd konstanter Temperatur anhaftet, sehr klein, meistens ungefähr 1 %. Es scheint hier also keine Präzisionsübertreibung zu sein, wenn man die Größenordnung des maximalen, aus Temperaturschwankungen entspringenden, zulässigen mittleren Fehlers auf 0.5 % festsetzt. Unter Zugrundelegung der einfachen Berthelot'schen Formel:  $Q_{10} = e^{10b}$ , kann man dann berechnen, daß diese zulässige Schwankung 0.07° bzw. 0.04° beträgt, wenn  $Q_{10} = 2$  bzw. 3 ist. (Aus Schwankungen von 0.5° entsteht ein Fehler von 3.5 bis 5.6 %.) Es versteht sich, daß besonders bei niedrigen Temperaturen, wo der Temperaturkoeffizient sehr groß ist, die Temperatur möglichst genau konstant erhalten werden soll, so daß entweder die Leistung des Thermostaten noch weiter gesteigert, oder bei niedriger Temperatur einer geringeren Zuverlässigkeit bei der Q-Bestimmung Rechnung getragen werden soll.

Hinsichtlich der Temperaturwechsel ist es zweckmäßig, die „Erhitzungs- bzw. Abkühlungsgeschwindigkeit“ in „Minutgraden“ auszudrücken; hierunter verstehe ich die Anzahl der in einer Minute durchlaufenen Celsiusgrade. Die physiologische

Literatur gibt hierüber selten Aufschlüsse; ich erwähne die Angabe Velten's<sup>1</sup>, daß er eine Erwärmung von 0.2 bis 0.4 Min.grad angewendet hat; Sachs, Zur Bestimmung der Temperaturgrenze des Lebens<sup>2</sup>, 0.23 bis 0.90, und beim Studium der Wärmestarre<sup>3</sup> 0.1 bis 0.5 Min.grad. Pfeffer erreicht bei seinem im nächsten Paragraphen zu besprechenden Heiztisch (Nr. 26) leicht eine Geschwindigkeit von 0.7 Min.grad. Ewart<sup>4</sup> sagt, er habe nur 1—10 Minutgrad in Anwendung gebracht, "in order to avoid any shock effect!"

Ich bezweifle, ob diese Auffassung richtig ist, und ob nicht die Erhitzungsgeschwindigkeit höchstens 0.1, vielleicht nur 0.05 Minutgrad betragen müßte — das wäre also die Minimalleistung unseres Apparates — um eine vollständig reversible Zustandsänderung der Protoplasmakolloide zu bewirken. Andererseits wünscht man auch die äußerst wichtigen irreversiblen oder teilweise reversiblen Zustandsänderungen (shock effects, Starre-Zustände, Wärme- und Kältetod) zum Gegenstande der Untersuchung zu machen, wie ich mir vorgenommen hatte, so ist es klar, daß die Maximalleistung des Apparates oberhalb der von Ewart genannten Geschwindigkeit liegen, also etwa 20 Min.grad betragen soll. — Der Apparat soll demgemäß sowohl äußerst gelinde wie äußerst schnell erwärmt bzw. abgekühlt werden können, und zwar nach Belieben mit einer vorher bestimmten Geschwindigkeit.

Dieser Faktor wird von Blackman bloß beiläufig erwähnt, doch ist er für die Optimum-Frage fast ebenso wichtig wie die Einwirkungsdauer der Temperatur, besonders bei Prozessen mit "shock-effects". Sagt ja auch Ewart, daß "there is a particular rate of rise of temperature at which streaming persists longest".

Durch die vorgehende Betrachtung wird auch über den zu untersuchenden Temperaturbereich Klarheit geschaffen. Für konstante Temperaturen und gelinden Temperaturwechsel würde ein

<sup>1</sup> W. Velten, Flora LIX (1876), S. 198 u. 216.

<sup>2</sup> J. Sachs, Flora XLVII (1864), S. 24 u. w.

<sup>3</sup> J. Sachs, Flora XLVI (1863), S. 454 u. w.

<sup>4</sup> A. J. Ewart, On the physics and physiology of protoplasmic streaming in plants; Oxford, 1903, S. 61.

Intervall von  $0^{\circ}$ — $45^{\circ}$  ausreichen. Wo jedoch auch sprunghafte und kurzwährende Temperaturänderungen in Betracht kommen, ist es bekannt, daß bei  $-10^{\circ 1}$  und bei  $+70^{\circ 2}$  noch Protoplasmaabewegung vorkommt. Diese Ziffern wären also als die Grenzen des möglichen Temperaturbereiches anzusehen.

Es versteht sich, daß die im obigen gemachten Angaben nur Schätzungen der anzustrebenden Leistungsfähigkeit sind. Sie mögen aber einen Anhaltspunkt für die Beurteilung unserer Apparatur schaffen.

### § 3. Übersicht über die älteren Apparate.

Die folgende Zusammenstellung ist eine sehr vollständige Liste der heizbaren Objektische, Heizschränke oder mikroskopischen Gefriervorrichtungen; wenigstens jeder Literaturangabe, die ich finden konnte, habe ich nachgespürt und nirgends fand ich alle mir bekannten Apparate zusammengestellt<sup>3</sup>.

Man könnte diese Vorrichtungen, wie es üblich ist, je nach ihrer äußeren Form gruppieren in heiz- bzw. abkühlbare Objektische und Mikroskopschränke. Besser ist es aber, dreierlei Prinzip zu unterscheiden, je nach der Weise worin das Objekt dem Temperaturwechsel ausgesetzt wird: A. Nur das Objekt wird erwärmt bzw. abgekühlt, und zwar einseitig, die andere Seite grenzt frei an der Luft, oder aber die Temperatur-Regulierung ist in ähnlicher Weise mangelhaft. B. Nur das Objekt wird erhitzt, aber allseitig. C. Das ganze Mikroskop, oder jedenfalls ein großer Teil davon, wird mit-erwärmt. — Nach diesem Einteilungsprinzip habe ich die hier unten aufgezählten Apparate mit A, B oder C bezeichnet, um sie kurz zu charakterisieren.

<sup>1</sup> W. Kühne, Unters. üb. d. Protoplasma u. d. Contractilität; Leipzig, 1864; S. 101.

<sup>2</sup> Ewart, a. a. O., S. 62.

<sup>3</sup> Nur der Charlier'sche Objektisch (wahrscheinlich  $\pm$  1860 publiziert) ist mir unbekannt geblieben.

1. L. Beale (The microscope in its application to practical medicine. — 2nd. ed., London 1858<sup>1</sup>, S. 92). — A.
2. F. Schweigger-Seidel (Virchow's Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. XXVII, 1863, S. 486). — A.
3. A. Rollett (Sitzber. d. K. Akad. d. Wiss. Wien, Math.-naturw. Cl. 2. Abth., L, 1864, S. 192). — A.
4. M. Schultze (Arch. f. mikr. Anat. I, 1865, S. 1). — A. Vgl. Th. W. Engelmann, Idem, IV, 1868, S. 334.
5. O. W. Thomé (Bot. Ztg. XXIII, 1865, S. 107). — A.
6. A. Schklarewski (Arch. f. mikr. Anat. IV, 1868, S. 342). — A.
7. H. Vogelsang (Pogg. Ann. d. Phys. u. Chem. CXXXVII, 1869, S. 58). — A.
8. S. Stricker (Handb. d. Lehre v. d. Geweben d. Menschen u. d. Thiere, I, 1871, S. X—XVI). — A. Vgl. Wiener med. Jahrbuch 1871, S. 132.
9. E. Klebs (Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmakol. I, 1873, S. 44). — B.
10. J. Sachs (Lehrb. d. Bot., 4. Aufl., Leipzig 1873, S. 706). — C.
11. P. L. Panum (Nordiskt Med. Arkiv VI, 1874, nr. 7, S. 8). — C.
12. L. Ranvier (Traité techn. d'histol., Paris 1875, S. 41; Figur in Lefevre, La chaleur animale, Paris 1911, S. 238, und in Dippel, Das Mikroskop I, S. 655). — B.
13. W. Velten (Flora LIX, 1876<sup>2</sup>, S. 196). — B.
14. C. von Naegeli (Das Mikroskop, 2. Aufl.<sup>3</sup>, 1877, S. 468). — B.
15. E. H. Hartley (Amer. Monthly Micr. Journ. I, 1880, S. 181; nach Zool. Jahresber. 1880, S. 24). — A.
16. W. H. Symons (Journ. R. Micr. Soc. II, 1882, S. 19; nach: Zool. Jahresber. 1882, S. 30). — A.
17. Senarmont (vgl. Dippel, Das Mikroskop I, 2. Aufl., Braunschweig 1882, S. 655). — B.
18. M. Flesch (Zschr. f. wiss. Mikrosk. I, 1884, S. 33). — A.

<sup>1</sup> Erste Aufl. mir nicht bekannt.

<sup>2</sup> Eine gute Übersicht bis auf das Jahr 1876 findet man in R. Gscheidlen's Physiol. Methodik; Braunsch. 1876, S. 249--260.

<sup>3</sup> Die erste Auflage konnte ich nicht zu Gesicht bekommen.

19. Th. Stein (Zschr. f. wiss. Mikr. I, 1884, S. 166). — A.
20. M. Löwit (Zschr. f. wiss. Mikr. II, 1885, S. 43). — A.
21. W. Vignal (Arch. d. physiol. norm. et pathol. XVII; nach Zschr. f. wiss. Mikr. II, 1885, S. 364). — B.
22. V. Babes (Cbl. f. Bakter. IV, 1888: 2, S. 23). — B.
23. C. Nuttall (Zschr. f. Hyg. IV, 1888, S. 373). — C.
24. F. Plehn (Ätiol. u. klin. Malaria-Studien; Berlin, 1890, S. 11). — C. Vgl. Abel, Cbl. f. Bakt. I, 1889.
25. L. Pfeiffer (Die Protozoen als Krankheitserreger; Jena 1890, S. 5). — A.
26. W. Pfeffer (Zschr. f. wiss. Mikr. VII, 1890, S. 433). — B.
27. L. Ranvier (Comptes rendus Paris, CX, 1890, S. 686). — C.
28. O. Israël (Practicum d. pathol. Histologie, 2. Aufl., Berlin 1893, S. 15). — B.
29. W. Behrens (Zschr. f. wiss. Mikr. XII, 1895, S. 1). — A.
30. H. Molisch (Unters. üb. d. Erfrieren d. Pflanzen; Jena 1897, S. 2). — C.
31. R. Kraus (Cbl. f. Bakt., I. Abth. XXIII, 1898, S. 16) — B. Vgl. R. Kraus, ibidem, XXXII, 1902, II, S. 467.
32. F. M. Exner (Drude's Ann. d. Physik (4) I, 1900, S. 844). — C.
33. R. Kraus (Cbl. f. Bakt., I. Abt. XXXII, 1902, II, S. 467). — A.
34. F. Van Rijsselberghe (Recueil Inst. Bot. Bruxelles Erréra, V, 1902, S. 224). — B.
35. A. J. Ewart (Protopl. streaming, Oxford 1903, S. 60). — B.
36. W. L. Balls (Ann. of Bot. XXII, 1908, S. 562). — B.
37. E. C. Teodoresco (Ann. d. Sc. nat., Bot., IX: 9, 1909, S. 239). — C.
38. H. E. Boeke (Zschr. f. Instrum.kunde XXIX, 1909, S. 72). — A.
39. H. W. Fischer, E. Brieger (Kolloid-Zschr. VII, 1910, S. 197). — B.
40. Th. Svedberg, K. Inouye (Kolloid-Zschr. IX, 1911, S. 154). — B.
41. M. Seddig (Zschr. f. anorg. Chem. LXXIII, 1911, S. 374). — A.

42. E. Schaffnit (Zschr. f. wiss. Mikr. XXVIII, 1911, S. 45). — B.  
 43. F. G. Cottrell (Journ. Amer. Chem. Soc. XXXIV, 1912, S. 1328). — A.  
 44. J. A. Long (Univ. of Calif. Publ., Zool., IX, 1912, S. 111). — C.  
 45. R. Brandt (Zschr. f. wiss. Mikr. XXX, 1913, S. 479). — A.

Durchmustert man diese lange Reihe von Apparaten kritisch sichtlich, so gewinnt man die Überzeugung, daß nur ganz wenige für exakte, quantitative Forschung in Betracht kommen, daß noch weniger den Namen „Mikrothermostat“, im Sinne eines fein und leicht temperierbaren mikroskopischen Objektraumes, verdienen. Bei den meisten handelt es sich ja um Vorrichtungen für kurzwährende Heizung (nicht einmal Abkühlung) auf eine ziemlich unbestimmte Temperatur; der Zweck ist lediglich, den „Einfluß von Temperaturerhöhungen“ zu studieren, und welche die erreichte Temperatur ist und wie lange sie anhält, das ist zunächst ohne Bedeutung für die rein qualitative Fragestellung. Bei einigen ist die Temperaturmessung sehr genau, die Wärme-Isolierung jedoch gänzlich ungenügend; oder aber das Objekt ist allseitig vom Medium eingeschlossen, und dann fehlt eine feine Thermoregulation; oder, schließlich, das ganze Mikroskop befindet sich in einem konstant temperierten Raum, aber die Temperaturmessung ist mit Fehlern behaftet und der Temperaturwechsel schwierig, wo überhaupt vorgesehen; während andere Apparate gerade durch leichten Temperaturwechsel ausgezeichnet sind, aber keinen konstanten Wärme-grad aufweisen können. „Mikrothermostate“ von universeller Anwendbarkeit, wie sie die Blackman'sche Methode erfordert, gibt es zurzeit nicht.

Die wichtigsten Apparate, die in Betracht kämen, sind die folgenden:

13. nach Velten. — Objekt in einem Becherglas von langsam durchströmendem Wasser (aus einem Behälter mit stetig erwärmtem Eiswasser) umgeben; die Geschwindigkeit ist regulierbar; der Abfluß wird durch eine Hebevorrichtung dargestellt. Der Objektträger ruht auf einem gläsernen Ring zwecks Isolierung.

rung, das Deckglas ist dem Objektträger dreiseitig aufgekittet, so daß das Präparat darunter geschoben werden kann. Das Objektiv (bis zu einem Immersionssystem von 600—1150maliger Vergrößerung) ist ganz im Wasser untergetaucht. Thermometergefäß neben dem Objekte im Wasser.

14. nach Nägeli. — Objekt von durchströmendem Wasser (aus einem erwärmten Behälter wie vorgehend) umgeben, in einer Objektkammer mit planparallelen Glaswänden; die Geschwindigkeit ist regulierbar. Gemessen wird die Temperatur des Wassers; sie ist auf 0.3 bis 1° konstant.

18. nach Flesch. — Objekt auf einem hohlen, von Wasser durchströmten Objektisch. Sinnreiche Zu- und Abflußeinrichtung: erstere durch T-Stück, welches Temperaturwechsel ermöglicht, die zweite durch ein ähnliches mit einem Hahne zur Geschwindigkeitsregulierung, und einer Klemme, die nur bei Temperaturwechsel geöffnet wird, damit die Veränderung schnell geschehen kann.

24. nach Plehn. — Das ganze Mikroskop befindet sich in einem doppelwändigen mit Asbest bekleideten Schrank, dessen Vorderwand aus zwei Glasplatten besteht, Hinterwand ist Türe; Deckel mit Löchern für Tubus und Mikrometerschraube, und für die Kreuztischknöpfe. Gasheizung mit genauer Regulierung mittels „elektrischen Kontaktthermometers“.

26. nach Pfeffer. — Auf einer Metallfläche mit zentraler Öffnung und überragendem Rande, der durch eine Gasflamme geheizt wird, ruht ein Glasgefäß mit Wasser gefüllt, worin das Objekt auf einer gläsernen Brücke liegt. Die Heizung wird durch einen Regulator geleitet, dessen Quecksilbergefaß sich (neben einem Thermometer) im Wasser befindet. Temperatur bei 50° auf 0.1° konstant. In 15 Min. ohne Schwierigkeit 10° Erhöhung.

Die letztgenannte Vorrichtung entspricht den meisten Forderungen: allseitige Erwärmung und Thermoregulation sind vorhanden. Die Apparate Velten's und Nägeli's (besonders ersterer), mit den Nebenapparaten nach Flesch, bieten jedoch den nicht zu unterschätzenden Vorzug, daß das Medium des Objektes fort-

während erneuert wird, wodurch weder Sauerstoffmangel noch Ansammlung von schädlichen Stoffwechselprodukten eintritt. Der Plehn'sche Apparat, der die modernste und vielseitigst verwendbare Form des Sachs'schen Wärmeschrankes darbietet, ist sehr zuverlässig für lange dauernde Versuche (Blackman!), wobei die Temperatur gut konstant erhalten werden kann; aber schnelle Temperaturwechsel sind nicht ausführbar, und die Temperatur der Luft wird gemessen statt der des Objektes.

Es ergibt sich, daß diejenige Apparatur alle genannten Vorteile in sich vereinen würde, die eine Kombination des Wärmeschrankes (C) mit dem Prinzipie des durchströmten Objektisches (B) darstellte. Ich habe mich bemüht, eine solche Kombination zusammenzustellen.

#### § 4. Ein neuer „Heizschrank“.

Als ich mich mit Professor Went über die Anfertigung eines Mikrothermostaten beriet, war er der Ansicht, das Schrankprinzip biete vorläufig mehr Vorteile als ein Objektisch. Ein Schrank-Thermostat wurde dann nach meinen Anweisungen in der Instrumentfabrik des Herrn Vink (Utrecht) konstruiert, der die Mitte hält zwischen den Apparaten nach Sachs, Plehn und Molisch. Er ist auf Tafel IV mit den Nebenapparaten dargestellt.

Allgemeine Beschreibung. Es ist kurz gesagt ein doppelwändiger Metallkasten mit Wasserfüllung, elektrischer Heizung und Thermoregulation, Rührapparat, Kreutztisch und einigen Vorrichtungen zur Durchlüftung und Zuführung von Wasser bei konstanter Temperatur.

Das Mikroskop (das große Stativ I von Zeiß) ist ganz eingebaut, nur das Okular ist sichtbar. Dieses aber würde die Beobachtung sehr beschwerlich machen, wenn der Thermostat die gewöhnliche parallelopipedförmige Gestalt hätte; darum habe ich der Oberhälfte eine eigentümliche abgestutzte Form gegeben, welche eine bequeme Haltung des Kopfes ermöglicht; zugleich wird dadurch der mitzu-



erwärmende Luftraum ansehnlich verkleinert. Die Durchlüftung mittels eines Stromes Außenluft hat den Zweck, etwaige Störungen durch unreine „Laboratoriumsluft“ (wie sie durch Untersuchungen von Richter u. a. Autoren festgestellt sind) von vornherein auszuschließen. Aus demselben Grunde ist nur Elektrizität für die Heizung angewendet. Die Zuführung von zwei Flüssigkeitsströmen ist vorgesehen für eine eventuelle Benutzung mit durchströmtem Objektisch bzw. für die Zuführung von plasmolysierenden u. dgl. Flüssigkeiten.

**Wassermantel, Rührapparat.** Der Apparat besitzt einen Wassermantel von 5 cm Dicke und ca. 15 Liter Volum. Die zwei schraubenförmigen Rührer A sind in durchlöchernten Messingröhren, die bis an den Boden reichen, eingeschlossen, so daß ein energisches Vermischen der Flüssigkeit erreicht wird. Das Rührwerk wird von einem Elektromotor getrieben. Die Schnur (mit Wachs eingeriebene Angelschnur) bewegt sich sehr dicht am Okular B vorüber und muß deswegen der Außenbekleidung des Thermostaten sehr nahe liegen. Für diese Bekleidung ist 1 cm dicker Filz gewählt, mit Ausnahme der Oberseite, die mit dünnerem Filz und darüber Wachstuch bedeckt ist, wegen der unangenehmen Berührung des Gesichtes mit dem Filz bei der Beobachtung. Diese Oberseite der Bekleidung (die in der Zeichnung ganz fortgelassen ist) wird beim Einlassen des Mikroskopes und des Objektes ganz entfernt und der dreiteilige Deckel (der also kein Wasser, sondern eine 1 cm dicke Asbest-Schicht enthält) aufgeklappt.

Dicht am Boden befindet sich ein Ausflußhahn C.

**Heizung.** Wie bei Rutgers' Thermostat<sup>1</sup> wird das Wasser elektrisch geheizt durch vier 0.25 Amp. Kohlenfadenlampen D, die in Messinghülsen eingesteckt werden. Die vier Lampen zusammen sind imstande die Innenluft des Schrankes ungefähr 10° pro Stunde zu erwärmen; d. h. in der von mir vorgeschlagenen Terminologie, 0.17 Minutgrad, eine sehr geringe Geschwindigkeit. Dennoch wurde hierbei alsbald die Beobachtung gestört durch das Beschlagen des Deckglases: das Mikroskop wurde ja hauptsächlich durch Strahlung

<sup>1</sup> A. a. O., S. 25.

erwärmt, die Erhitzung des Präparates ging also äußerst langsam vor sich, und aus der Luft schlug der Wasserdampf auf das Deckglas nieder. Dieser Übelstand machte sich natürlich in viel stärkerem Maße geltend, als ich eine schnellere Erhitzung mittels Eingießen warmen Wassers zu erreichen suchte.

**Wärmeregulierung.** Der elektrische Thermoregulator E ist nach dem gleichen Prinzip wie der Rutgers'sche gebaut<sup>1</sup>: ein großes Quecksilbergefaß ist mit einem festen (F) und einem verschiebbaren (G) Drahtkontakt versehen; sobald der letztere Platindraht durch Wärmeausdehnung des Quecksilbers dessen Oberfläche berührt, wird ein galvanischer Strom geschlossen, der den Magnet eines Relais betätigt, wodurch der Heizstrom unterbrochen wird. Auch das Relais ist wie bei Rutgers aus einer gewöhnlichen Klingel hergestellt, deren Klöppel zum Unterbrecher des Heizstromes umgebaut ist.

Eine praktische Änderung ist aber die Vorrichtung zur genauen Einstellung des Platindrahtes mittels einer Skala (I), die nach Eichung die vorherige ungefähre Einstellung der zu erreichenden Temperatur gestattet. Diese Vorrichtung ist unentbehrlich für das Einhalten einer uniformen Erwärmungsgeschwindigkeit; das Verschieben des Platindrahtes um 2.5 mm entsprach bei diesem Regulator einer Temperaturänderung von 1°; die Höchstleistung mit 4 Lampen betrug, wie erwähnt, 1° in 6 Minuten, und man hat es nun in der Hand, die Heizung schneller oder langsamer vor sich gehen zu lassen, indem man den Draht G jede 6, jede 10 usw. Minuten um 2.5 mm emporschiebt.

Die Amplitude der Temperaturschwankungen im Innern des Kastens betrug bei diesem Apparat 0.2°, später nicht weniger als 0.4° (wahrscheinlich infolge Verschmierung der Quecksilberkuppe durch zu starke Funken, welchem Übelstande bei der jeweiligen Anordnung der Relais-Schaltung nicht genügend abzuhelpen war). Selbstverständlich wäre diese Leistung durch Vergrößerung des Quecksilbergefaßes, Verengung des Steigrohres, Verringerung der Stromstärke usw. bedeutend zu steigern, dies war aber vorläufig

<sup>1</sup> Vgl. Ostwald-Luther's Physiko-chemische Messungen, 1910, S. 115.

nicht nötig. Außerdem hat das Stativ, worauf das Objekt ruht, eine so große Wärmekapazität, daß die Temperaturschwankungen des Mantelwassers wohl größtenteils ausgeglichen werden.

**Wärmemessung.** Ein Thermometer (J) befindet sich im Wassermantel, in einer durchlöcherten Messingröhre. Die Temperatur des Innern kann mit einem Thermometer (K) gemessen werden, das auf der Höhe des Objektes liegt. Wie die Temperatur des Objektes oder seiner nächsten Umgebung gemessen werden soll — entweder thermoelektrisch oder ebenfalls mittels Quecksilberthermometer — hängt davon ab, welche Art „Heiztisch“ gebraucht werden soll, jedenfalls ist dafür eine der Öffnungen L, M oder N bestimmt.

**Feuchtigkeit der Innenluft.** Die Erhaltung eines angemessenen Feuchtigkeitsgrades der Innenluft bietet ein schwieriges Problem dar. Wenigstens in meinen Vorversuchen, da ich ein *Trianea*-Pflänzchen entweder auf einem Objektträger oder in einem Glasschälchen beobachtete, trocknete die dünne Flüssigkeitsschicht unter dem Objektiv alsbald ein, und konnte nur durch das umständliche Öffnen des Deckels ersetzt werden. Ich habe, wie Rutgers, versucht die Luft durch Bedecken der Seitenwände mit feuchtem Filtrierpapier und durch eine Wasserschicht auf dem Boden (das Stativ wurde dann in ein passendes Metallschälchen eingesetzt) feucht zu erhalten, aber dennoch mußte der Thermostat einige Male geöffnet werden zum Anfeuchten des Papiers und des Präparates. Allerdings würde dieser Übelstand bei Verwendung eines „Heiztisches“ fortfallen.

**Durchlüftung.** Die beständige Lufterneuerung und -durchmischung wurde bewirkt mittels eines Wassertrommelgebläses (O), das reine Außenluft ansaugt und diese durch die Öffnung P und eine lange im Badewasser verlaufende Metallspirale, welche dicht am Boden des Innenraumes ausmündet, in den Thermostat hineinbläst. (Eine Saugpumpe ist natürlich bei diesem nicht hermetisch geschlossenen Thermostaten nicht anwendbar.) Weil die Geschwindigkeit des Durchblasens nicht zu groß werden darf, damit die Luft vor dem Eintreten in das Innere des Thermostaten richtig

die Temperatur des Mantels annehme, habe ich den Druck reguliert mittels eines Manostaten (Q)<sup>1</sup> und eines Quetschhahnes. Außerdem geht die Luft durch einen mit Wasser gefüllten Kolben (R), der besonders, wenn der Thermostat schnell auf eine höhere Temperatur gebracht werden soll, erwärmt werden kann und die durchgehende Luft mit Wasserdampf sättigt.

**Kreuztisch und Einstellung.** Zum Bewegen des Objektes diente ein eigens für diesen Thermostaten angefertigter Kreuztisch, der an Stelle des drehbaren Objektisches angebracht wird. In zwei senkrecht aufeinander stehenden Richtungen kann das Präparat um 1 cm verschoben werden; man muß also Sorge tragen, daß das Objekt vor dem Schließen des Thermostaten ungefähr eingestellt ist. Die beiden Triebknöpfe ragen an der rechten Seite aus dem Kasten heraus und sind ablösbar, damit sie erst nach dem Einsetzen des Mikroskopes durch die Wandöffnungen hindurch auf ihre Achsen gesetzt werden. Auch die Triebstange (S) für die grobe Einstellung des Tubus — die feine Mikrometerbewegung ist hier ohne Vorteil —, die an der linken Seite des Thermostaten sichtbar ist, wird erst nach dem Einsetzen des Mikroskopes anstatt des linken Schraubenkopfes angebracht. Man bewegt also das Objekt mit der rechten Hand, während die linke die Einstellung bedient.

**Beleuchtung und Vergrößerung.** Vom Gebrauch eines Kondensors und von Verwechslung der Objektive konnte abgesehen werden; der Kreuztisch war ja um mehr als 1 cm höher als die Frontlinse des Kondensors und für meine Zwecke genügte eine 3—400malige Vergrößerung vollkommen. Ich benutzte Objektiv C und Mikrometer-Okular 3, mit eingeschobenem Tubus zwecks Luft-raumersparnis. Der Spiegel empfing Licht von einer Nernstlampe, durch zwei runde, in der vorderen Doppelwand eingelassene Spiegelglasfenster von 12.5 cm Durchmesser. Ich habe nur dieses Licht benutzt, und das Tageslicht mittels eines Blechschirmes abgeschlossen. Auch habe ich gewöhnlich durch Zwischenschieben einer roten Glasscheibe die chemisch wirksameren Strahlen ausgeschlossen, weil sie die Strömung beeinflussen könnten; die Beob-

<sup>1</sup>Vgl. Luther-Ostwald, a. a. O., S. 293.

achtung wurde hierdurch nicht gestört. Molisch hat an seinem Apparat auch eine Triebstange zum Einstellen des Spiegels; um die Anzahl der Öffnungen möglichst zu beschränken, habe ich hiervon abgesehen, obwohl das Einstellen mit den Händen nach dem Einsetzen des Mikroskopes etwas beschwerlich war.

Abkühlung. Für Heizung über Zimmertemperatur genügten vorläufig die vier Lampen. Für mittlere Temperaturen zwischen 10 und 20° mußte kaltes Leitungswasser durchgeführt werden; zu diesem Zweck ist bei T eine Zufluß-, bei U eine viel weitere Abflußöffnung angebracht; um eine konstante Geschwindigkeit dieses Wassers zu erzielen, wurde ein konstantes Niveau (V) mit Überlauf (ein vertikal gestellter Kühler ohne Innenrohr) eingeschaltet. Für Temperaturen unter 10° kann der Strom durch Eis geführt werden, oder man kann den Thermostاتمantel mit Eis oder einem Kältegemisch füllen; hierzu dienen zwei Öffnungen (W und X), von denen die letztere unter dem Flüssigkeitsniveau liegt und daher mit einem fest verschraubten Deckel versehen ist.

Für die schnelle Abkühlung, die nach den Versuchen bei höheren Temperaturen notwendig ist, um die Kontrollmessung bei der Normaltemperatur auszuführen, wurde erstens der Regulator auf die verlangte Temperatur eingestellt, und dann so lange jedesmal  $\frac{1}{2}$  L warmes Wasser durch C abgezapft und ebensoviel kaltes durch J hineingegossen, bis das Relais wieder anschlug. — Hier taten sich aber sehr störende Umstände auf: erstens dauerte es mehrere Stunden, bevor Luft, Stativ und Objekt die Normaltemperatur wieder erreicht hatten, und zweitens trat starke Taubildung auf, weil ja die Luft zuvor soviel wie möglich mit Dampf gesättigt war, und dadurch wurden Objektiv und Deckglas längere Zeit so gut wie undurchsichtig. Es versteht sich, daß wenn die Innenluft trocken sein dürfte (wenn also das Objekt sich in einer eigenen Kammer befände), dieser Schwierigkeit abgeholfen wäre.

Durchströmung des Objektes. Wenn in dem „Heizschrank“ ein „Heiztisch“ angebracht wird, welcher eine eigene Durchwässerung braucht, so muß das Leitungswasser schon ungefähr die Temperatur des Mantelwassers angenommen haben, bevor es den Tisch

erreicht. Deshalb ist bei Y ein (doppeltes) Zuflußrohr angebracht, das in eine, im Mantelwasser verlaufende, Metallspirale übergeht und im Schrankinnern mit dem Objektische verbunden werden kann. Die (ebenfalls doppelte) Abflußöffnung Z hat keine Spirale und geht unmittelbar durch den Mantel hindurch, da das Wasser dann nicht mehr erwärmt zu werden braucht; das Rohr ist sogar mit einer isolierenden Asbestpackung versehen, so daß man, die Stromrichtung umkehrend, kaltes oder heißes Wasser unabhängig von der Manteltemperatur dem Objekte zuführen kann. — Die Vorrichtung ist, wie gesagt, in der Doppelzahl angebracht, damit das eine Röhrensystem für das Durchleiten von Wasser durch den Objektisch, das andere für den Zu- und Ablauf von plasmolysierenden u. dgl. Flüssigkeiten durch die eigentliche Objektkammer diene.

**Vorzüge und Nachteile dieses Apparates.** Aus dem Obenstehenden geht schon hervor, daß der vorliegende Thermostat in erster Linie geeignet ist für die Konstanterhaltung von Temperaturen zwischen  $0^{\circ}$  und  $45^{\circ}$  für lange Zeit, und von Temperaturen bis  $50^{\circ}$  für kürzere Versuchsdauer. Seine besonderen Vorzüge sind: 1. die große Wärmekapazität, die Temperaturschwankungen ausgleicht; 2. die Miterwärmung des Objektivs, so daß es das Objekt nicht abkühlen kann; 3. die Gelegenheit, die Beobachtungen mit monochromatischem (rotem) Licht auszuführen.

Unter die Nachteile ist zu rechnen: 1. die langsame Heizung und Kühlung, besonders des Mikroskopes; 2. das Austrocknen des Objektes bei Erhitzung in trockener Luft, und das Beschlagen der Glasteile bei Erwärmung in feuchter Atmosphäre; 3. die mangelhafte Temperaturmessung. Diese Nachteile sind so schwerwiegend, daß der Thermostat für Untersuchungen im Sinne Blackman's unbedingt einer Ergänzung in Gestalt eines heizbaren bzw. abkühlbaren Objektisches bedarf<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Ob der Heizschrank sogar ganz entbehrt werden könnte, kann ich noch nicht entscheiden. Es ist ein nicht zu unterschätzender Vorteil, daß die Umgebung des Objektes gleichmäßig temperiert ist (s. „Thermostaten mit konstantem Temperaturgefälle“ in Ostwald-Luther, S. 105).

Im Paragraph 7 werde ich die mit diesem Thermostaten ausgeführten Experimente zusammenfassen; jetzt mögen einige Versuche zur Herstellung eines heizbaren Objektisches beschrieben werden, die Anfang 1915 vom Mechaniker des botanischen Instituts, Herrn Roelink, ausgeführt wurden.

### § 5. Ansätze zur Konstruktion eines „Mikrothermostaten“.

Die heizbaren Objektische nach Velten, Nägeli, Pfeffer und Flesch sind an sich schon recht brauchbar. Wenn man die Gasheizung Pfeffer's durch eine elektrische ersetzt, und wie die anderen drei Autoren strömendes Wasser anwendet, so ist der Apparat im Prinzip fertig. Es sollen nur einige Verbesserungen angebracht werden; so z. B. ist das Untertauchen des Objektivs ins Wasser, obwohl nützlich, insofern es dann die Temperatur des Objektes nicht beeinflußt, verwerflich; die Regulation soll verfeinert werden; und der Apparat soll in den Heizschrank hineinpassen. Es hätte wahrscheinlich nicht schwer gehalten, einen „Heiztisch“ zu konstruieren, der den genannten u. ä. Prinzipien genügte, aber ich habe diese Aufgabe nicht zu Ende gebracht, weil die Hauptschwierigkeit in der Schädigung des Objektes lag, so daß ich mich mit einer möglichst einfachen Apparatur begnügt habe, die mir gestattete nachzuforschen, ob die erwähnte Schädigung auch beim „Heiztisch“-Prinzip auftrate.

Ein Objektisch (vgl. Fig. I). Eine 13.0 bei 9.5 bei 2.0 messende Dose aus starkem Kupferblech, mit genau überfallendem Deckel, ist mit einem runden Glasfenster A (Diam. 3.5 cm) im Boden und mit einer federnd einschiebbaren Messinghülse B mit Glasfenster (Diam. 3.0 cm) im Deckel versehen. Zwei ungefähr 1 cm hohe Brücken (C) mit Klemmfedern dienen zur Befestigung des Objektglases. Im Deckel ist ein Zuflußrohr (D) mit Luftloch (E), in der unteren Hälfte ein Abflußrohr (F) mit Vorrichtung für konstantes Niveau. Weiter sind vorläufig nur die Öffnungen für Thermometer (G) und Thermoregulator (H) angebracht. Es ist

also nur einfache Durchströmung vorgesehen, keine gesonderte Objektkammer vorhanden; der Apparat soll ja noch ausgebaut werden.

Das „Heizrohr“. Weil die Verzögerung des Protoplasmas auch in diesem Heiztisch auftrat und möglicherweise durch die Kupferteile oder den nachher angebrachten Lacküberzug bedingt sein könnte, habe ich versucht ob die Erscheinung auch aufträte in einem einfachen, fast ganz aus Glas bestehenden Apparat (s. Tafel

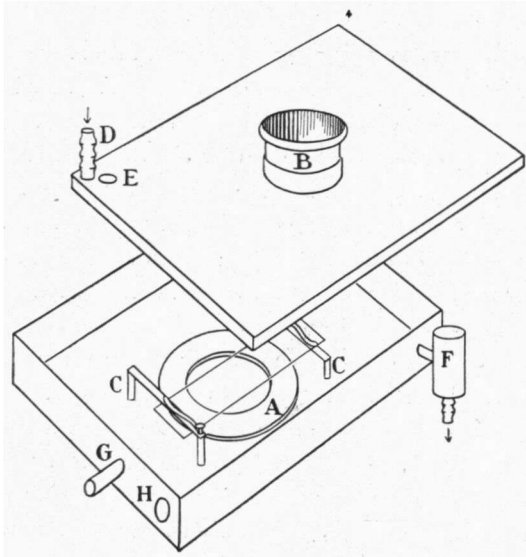


Fig. I.

V). Dazu ließ ich ein Glasrohr (A) von 3.5 cm Durchmesser und 16 cm Länge von zwei Seiten derart flach blasen, daß eine obere Fläche von 3 cm und eine untere von 11 cm Länge gebildet wurde, deren die letztere auf dem Objektisch ruhen sollte. Im übrig bleibenden 1.5 cm hohen Raum befinden sich Thermometer (B), Regulator (C) und Objekt (D). Letzteres wird durch zwei silberne Federn (E) gegen die obere Fläche des Objektrohres gedrückt; die Trianea-Wurzel, unter einem Deckglas, wird gegen Druck geschützt durch zwei longitudinal auf das Objektglas gelegte Glas- oder Holzstreifen.



Die Blätter der Pflänzchen ragen in dem seitlichen Hohlraum in die Luft, die durch eine Öffnung im Pfropfen zugelassen wird. Das Wasser, das durch die zugespitzte Einflußröhre (G) in das „Heizrohr“ mit Kraft hineingespritzt wird, und damit selbsttätig die Rührung besorgt, steht also unter atmosphärischem Drucke und muß auf konstantem Niveau erhalten werden mittels des weiten, oben offenen, Abflußrohres (H), das exzentrisch in die Korke (I) eingebohrt ist und durch Drehung der letzteren höher oder niedriger eingestellt werden kann.

Ein Nachteil ist, daß die dem Objektiv zugekehrte Rohrwand sehr uneben ist; vielleicht ließe der Apparat sich durch Zusammenkitten planparalleler Glasplatten in einer mehr vollendeten Form darstellen. Auch die Pfropfen wären vielleicht zu vermeiden. Ich habe bei meinen Versuchen zwar nur gut ausgekochte Korke benutzt, und wenn die Stromgeschwindigkeit eine große ist, wird der Einfluß des Wandmaterials auf das Objekt nur unbedeutend sein können, aber man soll ja nur möglichst einwandfreies Material verwenden.

**Der Thermoregulator.** An den Regulator für einen so kleinen Apparat müssen besondere Anforderungen gestellt werden, und es ist mir noch nicht gelungen, diesen gerecht zu werden. Erstens soll der Tauchkörper, des kleinen verfügbaren Raumes und der Wärmekapazität wegen, wenig voluminös sein, so daß die hieraus resultierende geringere Ausdehnungsfähigkeit (d. h. Empfindlichkeit) durch Verfeinerung der Steigröhre aufgewogen werden muß, und das hat wegen der Adhäsion des Quecksilbers wiederum seine Grenzen. Zweitens kann die Steigröhre nur eine beschränkte Länge besitzen, denn gesetzt, daß man eine Niveausteiigung von 1 mm pro Zehntelgrad und einen Temperaturbereich von  $-10^{\circ}$  bis  $+70^{\circ}$ , also im ganzen von  $80^{\circ}$  erzielen will, so müßte man eine Kapillare von 80 cm Länge anwenden! Man kann aber auch eine kurze Kapillare mit festem Kontaktdraht anbringen, wenn man eine Stellschraube mit Mikrometerverteilung für die Einstellung verwendet. Dabei bleibt noch die Schwierigkeit bestehen, daß Luft durch den Schraubengang eindringt, daß die elektrischen Funken die Queck-

silberoberfläche verunreinigen u. dgl. Vorläufig habe ich jedoch das in Tafel III abgebildete Modell gebraucht.

Der Quecksilberbehälter hat eine Länge von 150 mm und einen Durchmesser von 7 mm, und steht mittels eines Stieles mit engem Lumen in Verbindung mit der Steigkapillare (J), die einen Durchmesser von 0.3 mm hat; hieraus ergibt sich eine Niveausteigerung in der Steigkapillare von annähernd 1.5 mm pro Zehntelgrad. Die Kontaktstelle (S) im Kapillarrohr bleibt, wie gesagt, konstant; die Elektrode ist ein 0.1 mm dicker Platindraht, der durch ein der Kapillare aufgesetztes Hartgummikäppchen geht. Die Stellschraube (K) bildet die andere Elektrode; sie taucht in eine Erweiterung der Stielkapillare ein, und bewirkt hier die für eine Erhitzung von  $-10^{\circ}$  bis  $-70^{\circ}$  erforderliche Volumverminderung von 57 cmm. Der Stiel und die Steigkapillare sollen frei in die Außenluft herausragen; ein Teil des Quecksilbers, es sei denn ein kleiner Teil, ist also der Kammertemperatur ausgesetzt, was die Genauigkeit beeinträchtigen muß.

Das Relais. War das starke Funken des für den Heizschrank benutzten Relais schon für diesen wenig empfindlichen Regulator sehr hinderlich, für den feinen Regulatormechanismus des Objektisches war diese Vorrichtung völlig unbrauchbar. Deshalb wurde hier eine andere Form der Stromunterbrechung gewählt, die sich anfangs gut bewährt hat, und deswegen ebenfalls in Tafel III abgebildet ist; bei späteren Untersuchungen hat sie sich dennoch als unbrauchbar erwiesen, so daß ich auf die Beschreibung des Apparates ganz verzichten kann. Wahrscheinlich ist die Verschmierung der engen Kapillare am besten durch Hintereinanderschaltung mehrerer Relais zu umgehen. Vielleicht müßte man für diesen Zweck den Quecksilberregulator ganz verlassen und z. B. zum Doppelspiralprinzip greifen, das auch eine leichtere Konstruktion gestattet<sup>1</sup>.

Heizung bzw. Abkühlung. Der Heizkörper (U), bestehend aus einer Kohlenfadenlampe, die von einer doppelten wasserdurchflossenen Messingwand umgeben ist, befindet sich möglichst dicht

<sup>1</sup> Vgl. Ostwald-Luther, S. 115.

an dem Heizrohr. Es wäre für die Empfindlichkeit der Regulation viel besser, ihn in den Objektraum zu verlegen, aber für vorläufige Versuche genügte diese Aufstellung. Das Wasser wurde von dem schon im 4. Paragraphen erwähnten konstanten Niveau (V) geliefert; hier ist ja Einhaltung einer absolut konstanten Stromgeschwindigkeit unerläßlich, weil die Temperatur weitgehend von dieser Geschwindigkeit abhängig ist. Für hohe und tiefe Temperaturen genügten die Lampe und das kalte Wasser natürlich nicht, und mußte ihre Wirkung durch den Hilfsthermostaten (W) unterstützt werden; dieses selbständig regulierte Gefäß wurde auf einen, ca.  $1^{\circ}$  unter der Versuchstemperatur gelegenen, Wärmegrad gebracht, so daß nur diese kleine Differenz durch den Heizkörper ausgeglichen zu werden brauchte.

Es wurde also folgendermaßen verfahren. Vor dem Versuche, der z. B. den Einfluß einer Erwärmung von  $20^{\circ}$  auf  $30^{\circ}$  festzustellen bezweckte, wurde das Heizrohr auf  $20^{\circ}$  temperiert. Alsdann wurde der Hahn (X) geöffnet, so daß das Wasser, statt durch A zu fließen, weglief, und das Objekt wurde in dem Rohr befestigt. Der Hahn (X) wurde dann wiederum geschlossen, und nachdem der Wasserstrom und die Temperatur in A wieder hergestellt waren, wurde die Geschwindigkeit der Protoplasmaströmung bei  $20^{\circ}$  gemessen. Sodann wurde, während der möglichst schnellen Erhitzung des auf  $29^{\circ}$  eingestellten Hilfsthermostaten und unabhängig von der Temperatur dieses letzteren, der Regulator in regelmäßigen Zeitintervallen von Grad zu Grad verstellt, bis  $30^{\circ}$  erreicht war. Nachdem die Messungen der Geschwindigkeit bei dieser Temperatur beendet waren, wurde der Hilfsthermostat, etwa durch Eisstückchen, schnell auf  $19^{\circ}$  abgekühlt, und unabhängig von seiner Temperatur, der Regulator regelmäßig zurückgestellt bis  $20^{\circ}$  erreicht war.

Leistungen dieser Apparatur. Da es sich herausstellte, daß dieser einfache Apparat starke Temperaturschwankungen zeigte, wurde untersucht, wie diese durch Änderung der Bedingungen zu verringern seien. Hierbei wurden z. B. während einer Viertelstunde jedesmal Zeitpunkt und Temperatur beim automatischen Auslösen bzw. Zünden der Heizung beobachtet, sowie die Maximal-

und Minimaltemperaturen mit den diesbezüglichen Zeitpunkten. Dadurch konnte man 3 Sachen feststellen: 1. die Brenndauer im Verhältnis zur Versuchsdauer, 2. die Temperaturamplitude, 3. den Betrag des Temperaturnachhinkens. Das Ergebnis war wie folgt: I. Die Schwankungen sind am geringsten, wenn die Temperatur des Leitungswassers nicht viel unter der gewünschten Temperatur liegt, und wenn der Strom geschwind ist. Also das Wasser soll möglichst nahe zum gewünschten Hitzeegrad vorerwärmt werden und sich schnell bewegen. II. die Geschwindigkeit muß sehr konstant sein, denn die mittlere Temperatur ist von ihr weitgehend abhängig. III. Das Nachhinken (gleichbedeutend mit Unempfindlichkeit) ist zwar bei geringerer Geschwindigkeit am stärksten, weiter bei niedrigen Temperaturen am stärksten beim Maximum, bei höheren beim Minimum, es ist aber nicht sehr variabel, und hauptsächlich von der Wärmekapazität des Heizapparates und des Regulators abhängig. IV. Die Brenndauer steigt mit der Temperatur; ich konnte mit dem Lämpchen keine höhere Temperatur als etwa 25° erzielen; das Einschalten mehrerer Lampen ist aber unzweckmäßig, weil diese die Wärmekapazität des Systems erhöhen, und damit die Empfindlichkeit herabsetzen würden; für das Erzielen höherer Temperaturen ist es mithin unerlässlich, daß man das Wasser vorerwärmt.

Die Richtigkeit dieser Schlußfolgerungen zeigte sich nach Erhöhung des Flüssigkeitsniveaus, Verwendung weiter Zuflußröhren und Vorerwärmung. War das Leitungswasser nach Vorerhitzung 17.3°, der Regulator auf 18° eingestellt, so war die Amplitude 0.3° (alle 35—40 Sek.), das Nachhinken äußerst gering; war das Leitungswasser 30.4°, der Regulator 31°, so war die Amplitude 0.5° (alle 50—60 Sek.); auch bei 42—43° betrug die Amplitude nur 0.6°. Wenn man sich noch vergegenwärtigt, daß die Temperaturextreme nur sehr kurz währen, so daß die Schwankungen eigentlich viel geringer zu veranschlagen sind — wenn man die Möglichkeit einer Verfeinerung des Regulatormechanismus, einer Verstärkung und einer besseren Stellung des Heizkörpers, und eines besseren Wärmeschutzes des ganzen Systemes überwiegt — so wird man mit mir

glauben müssen, daß die Lösung des Mikrothermostat-Problems viel mehr in dieser Richtung als im Heizschrank-Prinzip zu finden ist<sup>1</sup>.

### § 6. Die Versuchstechnik.

Das Pflanzenmaterial. Die *Trianea*-Pflänzchen wuchsen in einem zementierten Becken, worin das Wasser 10—15 cm hoch stand, so daß die älteren Pflanzen im Boden wurzeln konnten, in einem kalt temperierten Gewächshaus. Die Tagestemperatur des Wassers betrug 20—25°, stieg während der Sommermonate einige Male über 28° und war im Herbst ungefähr 20° oder weniger. Mit Rücksicht auf die Wichtigkeit der thermischen Vorgeschichte eines Kolloids wie das Protoplasma ist<sup>2</sup>, habe ich diese Temperaturen regelmäßig aufgezeichnet. — Ende Oktober 1912 war die Mehrzahl der im Aquarienhaus wachsenden Pflänzchen kränkelnd, vielleicht weil das Wasser zu kalt wurde, wahrscheinlicher aber durch die verminderte Lichtintensität, denn in einem Aquarium von 25° wuchsen sie zu dieser Zeit kaum besser. Durch Ausscheiden der kranken Pflanzen wurde der Verfaulung nur kurze Zeit entgegengearbeitet. Anfang Dezember war nichts mehr mit den *Trianea* zu machen; erst Ende Februar fingen sie wieder zu wachsen an. Genau die gleichen Erkrankungserscheinungen machten sich Ende 1915 geltend.

Um die zarten Wurzelhaare möglichst wenig zu verletzen, verfuhr ich jedesmal so, daß ich einen Objektträger ins Aquarium tauchte und das Pflänzchen damit auffing. Dann wurde, über Wasser, sehr vorsichtig ein Deckglas aufgelegt und von dem ganzen Präparat eine Skizze angefertigt, um darauf die beobachtete Stelle

<sup>1</sup> Ein nicht geringer Nachteil dieser kleinen Apparate ist ihre Empfindlichkeit gegen leichte Erschütterungen, die sich den Wurzelhaaren mitteilen und die Beobachtung stören. Die Rührung kann deswegen nicht durch mechanischen Antrieb stattfinden.

<sup>2</sup> Zum Belege vgl. man die Mitteilung J. Clark's in Report Br. Assoc. Adv. Sci., Edinburgh 1892, S. 760.

zu markieren. Zur Beobachtung wurden nur die parallel zum Deckglas entspringenden, unbeschädigten Wurzelhaare mit normalem Protoplasma ausgewählt.

Die Geschwindigkeitsmessungen. 1. Das Mikrometer. Es wurde ein Okular-Netzmikrometer von  $5 \times 5$  mm benutzt, mit Teilfeldern von 0.5 mm Seitenlänge; die gewöhnlichen Strichmikrometer wirken ermüdend auf das Auge, wenn man nur eine kürzere Strecke beobachtet. Dieser Abstand wurde nämlich je nach der Strömungsgeschwindigkeit gewählt, für sehr starke Strömung wird der Fehler am geringsten sein über eine große Strecke, im entgegengesetzten Fall würde der Zeitverlust zu groß sein. Am vorteilhaftesten ist eine solche Strecke, die in 5–15 Sekunden durchlaufen wird. Darum wurde jede der 11 Ordinaten und Abszissen in Gedanken mit den Buchstaben a–k bezeichnet, so daß z. B. e–g die Länge von 2 Teilfeldern, d. h. 1 mm bedeutet. Natürlich wurde gleich im Anfang die Seitenlänge eines Teilfeldes mittels Objektmikrometer in  $\mu$  bestimmt für alle Okulare (meistens Meßokular 3 von Zeiß) und Objektive (meistens C), die in Anwendung kamen. Der Tubus wurde, soweit die Größenverhältnisse des Schranke dies zuließen (Objektivbrennweite, Einbettungsmethode), nur in eingeschobenem Zustande verwendet, weil er sonst leicht unwillkürlich eingeschoben wird, und so wurde selbstverständlich auch die Vergrößerung bestimmt. Es wurden mehrere Fehlerquellen untersucht, aber nur eine horizontale Verschiebung des ganzen Okulars im Tubushalse verursacht einen ziemlich großen Fehler, einen Spielraum von nämlich ca. 1 %, so daß man Sorge tragen muß, während der Beobachtung nicht am Okular anzustoßen.

2. Die Messungen. Das rotierende Protoplasma des *Trianea*-Wurzelhaares gestattet sehr leicht Geschwindigkeitsmessungen. Obwohl der Strom eine Schraubenlinie beschreibt, sind doch ihre Windungen so locker, daß man große Strecken als gerade Linien betrachten kann. Größere Massen und kleine Körnchen nehmen an der Bewegung teil; wenn man aber erwartet, daß erstgenannte die langsameren seien, so wird man bemerken, daß dies nicht zutrifft; man kann weder zwischen diesen Stromelementen, noch etwa

zwischen wandständigen und frei schwimmenden Partikeln einen Geschwindigkeitsunterschied nachweisen, so daß man einfach jedes deutlich unterscheidbare Teilchen für die Messung ins Auge fassen kann. Es ist jedoch notwendig, die Mikrometerteilung parallel zur Stromrichtung zu stellen, denn nur wenn die Abweichung der Richtlinie von der Stromrichtung über 10 Intervallen in der Längsrichtung 1 Intervall in der Querrichtung ist, wird der Fehler in der Längenmessung (wie eine einfache Berechnung zeigt) kleiner als 0.5 % sein können.

Anfangs wurden die Messungen derart ausgeführt, daß mittels einer Arretier-Uhr die Zeit bestimmt wurde, worin der Strom eine bestimmte Strecke durchlief. Diese Uhren leiden aber auf die Dauer das fortwährende Rückspringen nicht, und für diese kurzen Zeiten fällt der Fehler des ungenau Stoppen und auf 0 Springen zu sehr ins Gewicht. Deshalb wurde später mittels eines Metronoms die Strecke bestimmt (in Zehntel eines Intervalles abgeschätzt), welche in 10—15 Sekunden durchlaufen wurde. Es ist hier gewiß die beste Methode.

Für jede Geschwindigkeitsbestimmung wurden 10—50 Einzelbestimmungen ausgeführt. Obwohl die Fehlerberechnung ergab (s. unten), daß 25 Messungen bei genügender Sorgfalt vollkommen ausreichen, so wurde doch, wo nur irgend Anlaß und Gelegenheit für größere Genauigkeit bestand, eine größere Zahl gebraucht. Nach je 19 Messungen wurden immer Zeit und Temperatur abgelesen.

3. Die Aufzeichnung. Hier sei ein Versuchsprotokoll für 25 Messungen angeführt:

1 Interv. =  $32.8\mu$ . Vergr. 3/C. Tub. 134 mm, ohne Rev. (Haar) I.  
In 10 Sek. (Metron.):

Zeit.	Temp.							Mittel	pro Min.
12.20	19.70°	↓ 5.3	5.1	4.7	4.6	4.4	4.8	Interv. in 10'' = 944	μ
		↓ 5.7	4.9	4.7	4.4	4.6	4.7	„ „ 10'' = 925	„
12.27	19.70°	↓ 5.0	5.0	4.8	4.8	4.9	4.9	„ „ 10'' = 964	„
		↓ 4.3	5.3	5.2	5.0	5.2	5.0	„ „ 10'' = 984	„
12.30	19.75°	↓ 4.9	5.1	4.9	5.0	4.7	4.9	„ „ 10'' = 964	„
12.32	19.80°						$4.86 \times 32.8\mu$	in 10'' = 956	μ

Die Pfeilspitzen bedeuten die Stromrichtung, und zwar ist mit  $\downarrow$  ( $\kappa\alpha\tau\omega$ ) eine apikalwärts, mit  $\uparrow$  ( $\acute{\alpha}\nu\omega$ ) eine zur Wurzel zurückgekehrte Strömung gemeint. Anfangs schien es oft, als ob diese Richtungen eine verschiedene Geschwindigkeit besaßen, nach vielen Wiederholungen glaube ich jedoch, daß die Erscheinung nur eine zufällige war.

4. Die Berechnung. Der mittlere Fehler wurde in der üblichen Weise berechnet (das verbesserte Rechenschema Charlier's<sup>1</sup> ist hierbei sehr bequem), und der wahrscheinliche Fehler durch Multiplikation mit  $\frac{2}{3}$  daraus erhalten. Es hat sich ergeben, daß der Fehler der Geschwindigkeitsbestimmungen außerordentlich gering ist. Im obigen Beispiele ist der mittlere Fehler 0.06, der wahrscheinliche 0.04, oder prozentisch nur 1.2 bzw. 0.8 %, die Geschwindigkeit mithin 945—968 bzw. 949—964  $\mu$  pro Minute. In allen Versuchen fand ich höchstens etwa 3 % mittleren Fehler, im allgemeinen aber 1—2 %.

Dieser Umstand ist es, der mich veranlaßte, alle systematischen Fehler möglichst zu beseitigen, auch sehr geringfügige Temperaturschwankungen zu verringern usw., in der Hoffnung, daß hier ein äußerst exaktes Versuchsmaterial vorliege. Es ist mir aber nicht gelungen sicherzustellen, ob der hohen Präzision der Bestimmungen auch eine genügende Richtigkeit entspricht<sup>2</sup>. Soll man nicht die progressive Verzögerung (s. nächsten Abschnitt) als einen systematischen Fehler betrachten, der die Richtigkeit beeinträchtigt? und was soll man von der Zahlenserie in Versuch 29 denken, wo im Laufe einiger Stunden eine Geschwindigkeitsschwankung stattfindet? Bei einem so variablen Objekt wie den Wurzelhaaren kann man die Reproduzierbarkeit der Bestimmungen ausschließlich durch sofortige Wiederholung prüfen, dann soll man aber identische Zahlen erhalten. Im allgemeinen zeigten die Messungen befriedigende Übereinstimmung.

<sup>1</sup> W. Johannsen, Elemente der exakten Erblchkeitslehre, 2. Aufl., 1913, S. 695.

<sup>2</sup> Vgl. Ostwald-Luther S. 2.



5. Die graphische Darstellung. Die erhaltenen Mittelwerte wurden in ein Koordinatensystem eingetragen, und zwar die Zeit auf die Abszisse, die Geschwindigkeit auf die Ordinate. Dabei wurden die von Ostwald-Luther<sup>1</sup> gegebenen Vorschriften berücksichtigt, so daß die Kurve nicht an Punkten, sondern an Rechtecken angeschmiegt wurde. Wenn also, wie im obigen Beispiele, die Messung von 12.20 bis 12.32 dauerte, und die Geschwindigkeit zwischen 945 und 968  $\mu$  pro Minute sich befand, so wurde mittels dieser vier Größen ein kleines Rechteck konstruiert, und die Kurve hier durchgezogen. Auf diese Weise bekommt man auch graphisch einen Eindruck von der Zuverlässigkeit bzw. Variabilität der Resultate.

6. Versuche mit *Avena*. Wie schon anfangs erwähnt, haben auch die Wurzelhaare von *Avena sativa* sich als nötigenfalls brauchbares Versuchsobjekt erwiesen. Zwar sind die Haare viel schmäler als die der *Trianea* (14 gegen 65  $\mu$ ) und kürzer, die Rotation viel träger (420 gegen 700  $\mu$  pro Minute), die Beobachtung somit schwieriger; andererseits empfiehlt sich *Avena* durch die Leichtigkeit, womit es sich das ganze Jahr hindurch in genau dem gleichen Wachstumsstadium herbeischaffen läßt, durch die Abwesenheit grüner Blätter und durch die Kleinheit des Objektes, schließlich durch den Umstand, daß *Avena* ein in vielen Richtungen erprobtes Versuchsobjekt ist. Es kann also wertvolles Vergleichsmaterial abgeben.

Ich verfuhr derart, daß ich am ersten Tage die Haferkörner in Wasser legte; am zweiten Tage auf feuchtes Filtrierpapier; am vierten Tage wurden 10 schön gekeimte Körner ausgesucht und damit 2 Zylindergläser beschickt. Diese waren mit einem Stückchen Hydrophile-Gaze überzogen und die keimenden Körner darin gesteckt, so daß die Wurzeln frei herunterwachsen konnten. Am siebenten Tage wurde die beste Wurzel ausgesucht, die Gaze wurde rings herum mit einer Schere ausgeschnitten und mit dem Keimling auf den Objektträger ausgebreitet.

Anfangs wurde als Kulturflüssigkeit nur Wasser gebraucht. Weil aber die Versuche Hansteen's<sup>2</sup> den günstigen Einfluß des Kalziums auf die Wurzelhaarbildung und auf die Entwicklung der Wurzel

<sup>1</sup> A. a. O., S. 26.

<sup>2</sup> A. a. O.

überhaupt gezeigt hatten, wurden auch in dieser Richtung Versuche gemacht, die jedoch nicht zum erwarteten Resultat führten. Die Ca-K-Wurzeln bildeten sich zwar schön aus, die Haare entwickelten sich aber häufiger in den  $H_2O$ -Kulturen. Dann wurde endgültig reines Wasser gewählt, welches für die Versuchsanordnung (Durchströmung) ungleich große Vorzüge bot.

Die Experimente mit *Avena* sind jedoch in den Hintergrund getreten. Ich will nur noch erwähnen, daß ich einmal gesehen habe, daß Haare ohne Strömung, als sie einige Augenblicke dem Sonnenlicht ausgesetzt waren, lebhaft Rotation zeigten. Bei *Trianea* habe ich aber nichts von einer solchen Empfindlichkeit der Rotation für Licht bemerken können.

### § 7. Beobachtungsergebnisse.

**Die Verzögerung.** Schon bei meinen ersten Versuchen fiel es mir auf, daß die Geschwindigkeit des Protoplasmas in längeren Zeiträumen nicht konstant war, und auf vielerlei Weise habe ich versucht festzustellen, ob hier schädliche Einflüsse im Spiel seien. Sowohl wenn die Pflänzchen auf einem Objektträger ausgebreitet, unter Deckglas beobachtet wurden, wie in einem offenen Glaschälchen frei schwimmend unter einer Wasserimmersionslinse (Zeiß Apochr. 2.5 mm), welche Methode durch Beweglichkeit der Wurzel sehr beschwerlich war, wie auch unter einem möglichst kleinen Deckgläschen, trat bei 25° eine merkliche Verzögerung auf. Es konnte also m. E. weder Kohlensäureansammlung noch Sauerstoffmangel daran schuld sein. Ich erhielt z. B. unter einem 20 × 40 mm Deckglas:

Versuch 10;

Anfang		995 $\mu^1$	(mittl. Fehler $\pm 20 \mu'$ ).
Nach 5½	St.	767 $\mu'$	( „ „ $\pm 18 \mu'$ )
„ 20	St.	738 $\mu'$	( „ „ $\pm 10 \mu'$ )
„ 24	St.	695 $\mu'$	( „ „ $\pm 14 \mu'$ ).
„ 43	St.	620 $\mu'$	( „ „ $\pm 14 \mu'$ ).
„ 53	St.	558 $\mu'$	( „ „ $\pm 13 \mu'$ ).

<sup>1</sup>  $\mu'$  bedeutet: ...  $\mu$  pro Minute.

Mit kleinstem Deckglas ( $10 \times 20$  mm):

Versuch 13.

Anfang	932 $\mu'$	(mittl. Fehler $\pm 22 \mu'$ ).
Nach $4\frac{1}{2}$ St.	846 $\mu'$	( „ „ $\pm 14 \mu'$ ).
„ 17 St.	866 $\mu'$	( „ „ $\pm 15 \mu'$ ).
„ 42 St.	746 $\mu'$	
„ 51 St.	615 $\mu'$	

Man könnte zwar denken, die Temperatur von  $25^\circ$  wäre schon schädlich, obwohl die Pflänzchen in einem auf  $25^\circ$  temperierten Wasserbecken gewachsen waren, und eine  $10^\circ$  höhere Temperatur anscheinend nicht schädlicher ist (s. unten). Einige Versuche bei  $20^\circ$ , wobei die mit kleinem Deckglas versehenen Objekte in eine halbwegs mit Wasser gefüllte Petri-Schale eingelegt wurden, zeigten jedoch die gleiche Erscheinung. Hierbei wurden jedesmal zwei verschiedene Haare beobachtet.

Versuch 45.

	Haar I.	Haar II.
Nach 1 St.	1150 $\mu'$	995 $\mu'$
„ 2 St.	1110 $\mu'$	935 $\mu'$
„ 3 St.	1120 $\mu'$	980 $\mu'$
„ 4 St.	1110 $\mu'$	975 $\mu'$
„ 6 St.	1080 $\mu'$	965 $\mu'$
„ 25 St.	985 $\mu'$	965 $\mu'$
„ 26 St.	955 $\mu'$	945 $\mu'$

Versuch 49<sup>1</sup>.

	Haar I.	Haar II.	Haar III.	Haar IV.
Nach 1 St.	1220 $\mu'$	1230 $\mu'$	1170 $\mu'$	1230 $\mu'$
„ 2 St.	1190 $\mu'$	1260 $\mu'$	1120 $\mu'$	1190 $\mu'$
„ 3 St.	1170 $\mu'$	1200 $\mu'$	1080 $\mu'$	1210 $\mu'$
„ 4 St.	1190 $\mu'$	1260 $\mu'$	1140 $\mu'$	1190 $\mu'$

<sup>1</sup> Für die Haare I und II sind jedesmal 25 Bestimmungen ausgeführt, für III und IV nur 5. Trotzdem ist die Übereinstimmung auffallend. Wenn man die Zahlen „nach 2 Stunden“ gleich 100 setzt, so ist:

	I	II	III	IV
nach 6 St.	95	94	94	94
„ 10 St.	87	87	90	91
„ 26 St.	85	83	87	77
„ 29 St.	80	82	—	—

		Haar I.	Haar II.	Haar III.	Haar IV.
Nach	5 St.	1170 $\mu'$	1230 $\mu'$	1050 $\mu'$	1060 $\mu'$
"	6 St.	1130 $\mu'$	1180 $\mu'$	1050 $\mu'$	1120 $\mu'$
"	7 St.	1090 $\mu'$	1140 $\mu'$		
"	10 St.	1030 $\mu'$	1090 $\mu'$	1010 $\mu'$	1080 $\mu'$
"	11 St.	1060 $\mu'$	1170 $\mu'$		
"	12 St.	1070 $\mu'$	1160 $\mu'$		
"	26 St.	1010 $\mu'$	1050 $\mu'$	970 $\mu'$	920 $\mu'$
"	27 St.	990 $\mu'$	1080 $\mu'$		
"	28 St.	1010 $\mu'$	1040 $\mu'$		
"	29 St.	950 $\mu'$	1040 $\mu'$		

Ebenso wurde bei 17.5° deutliche Verzögerung beobachtet (Versuchstechnik wie oben):

Versuch 48.

		Haar I.	Haar II.
Nach	1 St.	900 $\mu'$	900 $\mu'$
"	2 St.	930 $\mu'$	950 $\mu'$
"	3 St.	910 $\mu'$	920 $\mu'$
"	4 St.	935 $\mu'$	950 $\mu'$
"	5 St.	950 $\mu'$	970 $\mu'$
"	6 St.	970 $\mu'$	965 $\mu'$
"	25 St.	810 $\mu'$	810 $\mu'$
"	27 St.	785 $\mu'$	780 $\mu'$
"	29 St.	790 $\mu'$	760 $\mu'$

Aus diesen und ähnlichen Versuchen scheint mit Sicherheit hervorzugehen, daß auch bei der größten Sorgfalt und unter Vermeidung aller denkbaren schädlichen Einflüsse, unter den jeweiligen Versuchsbedingungen nach 6—10 Stunden eine bedeutende Verzögerung der Protoplasmaströmung eintritt.

Mit dieser Verzögerung geht auch eine merkliche Veränderung der Protoplasmastruktur einher. Während das normale Protoplasma in allen Wurzelhaaren anfänglich sehr gleichmäßig flüssig, feinkörnig ist, in den jüngsten Haaren nur an der Spitze ein wenig der Zellwand adhärierend, wird meine Struktur allmählich gröber, und zwar z. B. in Versuch 49 nach 10 Stunden deutlich klumpicht.

Jetzt tat sich die Frage auf, ob diese Zustandsänderung vielleicht eine Folge des Alterns der Haare während der Beobachtung sei. Über die Lebensdauer der Wurzelhaare und der Wurzel ist nichts

bekannt; zwar ist es an sich nicht wahrscheinlich, daß Wurzeln von 10—20 cm und Haare von 0.5—1.5 cm Länge so schnell wachsen und altern, daß hieraus innerhalb 10 Stunden merkliche Zustandsänderungen hervorgehen; ich habe mich dennoch bemüht, die Geschwindigkeit bei jüngeren und älteren Haaren derselben Wurzel zu messen. Und zwar habe ich jedesmal mit den älteren angefangen, damit der Zeitfaktor sich am schwächsten bemerkbar machen könne, weil ja inzwischen (die Beobachtungen erstreckten sich hierbei über mehrere Stunden) die jüngeren alternen.

Die Untersuchung hat ergeben, daß entweder kein Geschwindigkeitsunterschied zwischen jungen und alten Haaren bemerkbar war, oder ein unregelmäßiges Abnehmen der Geschwindigkeit in den älteren Haaren. Ich führe zwei Versuche an (beide bei 25°):

Versuch 19<sup>1</sup>.

Haar	I (älteste, gleiche Zone)	1080 $\mu'$
"	II	1390 $\mu'$
"	III	1240 $\mu'$
"	IV	1150 $\mu'$
"	V	1730 $\mu'$
"	VI	1670 $\mu'$
"	VII	1310 $\mu'$
"	VIII	1180 $\mu'$
"	IX	1155 $\mu'$
"	X	995 $\mu'$
"	XI (jüngste)	1555 $\mu'$
"	XII "	1312 $\mu'$

Versuch 20<sup>2</sup>. Umgekehrte Reihenfolge, also verschärfter Gegensatz.

Haar	I (jüngste, gleiche Zone)	646 $\mu'$
"	II	1080 $\mu'$
"	III	963 $\mu'$
"	IV	1340 $\mu'$

<sup>1</sup> Zwischen I und XII verliefen 6 Stunden; XII wurde im Gesichtsfelde belassen und noch zweimal untersucht:

nach	9 St.	1250 $\mu'$
"	21 St.	1040 $\mu'$

<sup>2</sup> Zwischen I und XI verliefen 5 Stunden; XI wurde 9 Stunden später nochmals beobachtet: die Geschw. war nur noch 1010  $\mu'$ .

Haar	V	1077 $\mu'$
„	VI	882 $\mu'$
„	VII	1113 $\mu'$
„	VIII	847 $\mu'$
„	IX	1026 $\mu'$
„	X	1020 $\mu'$
„	XI (älteste)	1200 $\mu'$

Die Erwartung hat sich also keineswegs erfüllt; man kann also ruhig annehmen, daß nicht das Altern der Haare für die Geschwindigkeitsabnahme verantwortlich zu machen ist. Andere Faktoren müssen im Spiele sein.

Vielleicht wäre das Verwenden des Aquariumwassers als Beobachtungsmedium Ursache von Verwesung der Stoffwechselprodukte und Mikroorganismen. Bei längerem Aufenthalt in Leitungswasser, und überdies Beobachtung in rotem Licht, wurde jedoch das gleiche Ergebnis erhalten (Temp. 25°):

Versuch 28.

	Haar I (jung)	Haar II (älter).
Nach 1 St.	1270 $\mu'$	—
„ 2 St.	—	1370 $\mu'$
„ 5 St.	1120 $\mu'$	1280 $\mu'$
„ 9 St.	1100 $\mu'$	1270 $\mu'$
„ 21 St.	1060 $\mu'$	Starre!
„ 24 St.	840 $\mu'$	

Jetzt wurde versucht, wie der kupferne durchströmte Objektisch sich verhielt. Bei 21° wurde das Protoplasma sehr stark geschädigt; in allen Haaren war es am Schluß des Versuches zu großen Klumpen zusammengeballt:

Versuch 47.

	Haar I.	Haar II.
Nach 2½ St.	1150 $\mu'$	1170 $\mu'$
„ 5 St.	1110 $\mu'$	1110 $\mu'$
„ 23 St.	770 $\mu'$	660 $\mu'$

Der Versuch wurde wiederholt; jedoch mit einer Paraffinschicht auf den Kupferteil des Apparates. Das Ergebnis war bei 18° wiederum Verzögerung:

## Versuch 53.

		Haar I.	Haar II.
Nach	2½ St.	1020 $\mu'$	850 $\mu'$
„	4½ St.	980 $\mu'$	850 $\mu'$
„	25 St.	550 $\mu'$	550 $\mu'$

Der Versuch wurde nochmals wiederholt, nachdem das Kupfer mit Zeiß Stativlack angestrichen war; dieser Lack wird im Muffelofen eingebrannt und gibt wahrscheinlich fast keine löslichen Bestandteile ab. Bei einer Temperatur von 27° (über Nacht wurde kein Wasser durchgeführt und sank die Temperatur auf 18–20°) trat auch Verzögerung auf:

## Versuch 56.

		Haar I.	Haar II.
Nach	4½ St.	1650 $\mu'$	1630 $\mu'$
„	26½ St.	1420 $\mu'$	1380 $\mu'$

Auch im durchströmten gläsernen Objektrohr, worin das Tageslicht frei eindrang, so daß hier von den natürlichen Verhältnissen am wenigsten abgewichen wurde, war Verzögerung erkennbar:

Versuch 57. Temp. 28° (über Nacht  $\pm$  18°.)

Nach 1 St. 1720  $\mu'$ ; nach 27 St. 1540  $\mu'$ .

Versuch 58. Temp. 25° (über Nacht  $\pm$  18°.)

		Haar I.	Haar II.
Nach	1 St.	1030 $\mu'$	1190 $\mu'$
„	5½ St.	960 $\mu'$	950 $\mu'$
„	26 St.	730 $\mu'$	760 $\mu'$

Man sieht somit in allen Versuchen einen unverkennbaren „Gang“ auftreten, der mit einer sichtbaren Zustandsänderung des Protoplasmas verknüpft ist. Geschieht das schon bei sicher harmlosen Temperaturen, die während der günstigsten Vegetationszeit im Nährwasser der *Trianea* herrschen, so ist es unmöglich bei höheren Temperaturen den Umfang der progressiven Wärmeschädigung richtig einzuschätzen; wird auch diese Schädigung sich nicht eher und stärker bei höherer Temperatur geltend machen? Man darf doch verlangen, daß eine unversehrte Pflanze, die in annähernd unveränderten Wachstumsbedingungen verbleibt (abgesehen vom ho-

rizontalen Stand der Wurzel und der Beschädigung vieler Wurzelhaare), während 24 Stunden annähernd normal funktioniere.

Ich habe darum gemeint, es hätte keinen Zweck, die geplante Untersuchung über andere Temperaturen auszudehnen, so lange die Versuche mit einem systematischen Fehler unbekannten Ursprungs behaftet waren. Nur aus methodischen Rücksichten schien es mir erwünscht, mich mit meiner Apparatur bei anderen Wärmegraden zu orientieren.

Konstante Temperatur 30° (31°).

Versuch 31. Erste Messung bei 25°, 2½ St. nach dem Einsetzen in den Heizschrank; dann erwärmt auf 30°; 2½ St. später nächste Messung. Protoplasma schon nach 8½ St. ein wenig klumpicht; schließlich ganz aus großen sich fortwälzenden Massen bestehend.

Temp. 25°.	Nach	2½ St.	760 $\mu'$
„ 30°.	„	5 St.	1040 $\mu'$
	„	8½ St.	1060 $\mu'$
	„	9½ St.	1040 $\mu'$
	„	21 St.	920 $\mu'$

Versuch 32. Um die lange Vorbereitung in Versuch 31 zu umgehen, unmittelbar auf 30° erwärmt.

Nach ½ St. 1360  $\mu'$ . Nach 3 St. 1035  $\mu'$ .

Versuch 35. Das Objektglas wird auf einer Brücke (zwei Glasstäbchen) in ein Färbegläschen gelegt, und dieses so weit mit Wasser gefüllt, daß das Deckglas nur wenig höher als die Wasseroberfläche liegt und die Wurzel in das Wasser taucht.

Nach	1 St.	1590 $\mu'$	( $\pm$ 20 $\mu'$ ).
„	3 St.	1587 $\mu'$	( $\pm$ 18 $\mu'$ )
„	5 St.	1717 $\mu'$	( $\pm$ 21 $\mu'$ )
„	24 St.	1622 $\mu'$	( $\pm$ 23 $\mu'$ )

Versuch 37. Versuchsanordnung wie unter 35.

	Haar I.	Haar II.	Haar III.
Nach 2½ St.	1581 $\mu'$ ( $\pm$ 16 $\mu'$ )	1467 $\mu'$ ( $\pm$ 22 $\mu'$ )	1589 $\mu'$ ( $\pm$ 24 $\mu'$ )
„ 4½ St.	1579 $\mu'$ ( $\pm$ 21 $\mu'$ )	1486 $\mu'$ ( $\pm$ 32 $\mu'$ )	1544 $\mu'$ ( $\pm$ 25 $\mu'$ )
„ 22½ St.	1306 $\mu'$ ( $\pm$ 12 $\mu'$ )	1303 $\mu'$ ( $\pm$ 14 $\mu'$ )	1360 $\mu'$ ( $\pm$ 15 $\mu'$ )



Versuch 43. Temperatur 31°. Objektglas in Petrischale mit Wasserschicht. Von den zwei beobachteten Haaren zeigt I eine Hemmung auf der Mitte seiner Länge, wodurch die Strombahn auf die basale Hälfte beschränkt ist.

	Haar I.		Haar II.
Nach ½ St.	1910 $\mu'$	Nach 1 St.	1915 $\mu'$
„ 1½ St.	1830 $\mu'$	„ 3 St.	1940 $\mu'$
„ 3½ St.	1720 $\mu'$	„ 4 St.	1800 $\mu'$
„ 22½ St.	1420 $\mu'$	„ 23 St.	1760 $\mu'$
„ 24 St.	1400 $\mu'$		

Versuch 44. Temperatur 31°. Pflanze mit der größten Vorsicht auf dem Objektglas aufgefangen.

	Haar I.	Haar II.
Nach 1 St.	2240 $\mu'$	1970 $\mu'$
„ 3 St.	2000 $\mu'$	2100 $\mu'$
„ 4 St.	2070 $\mu'$	2140 $\mu'$
„ 25 St.	1710 $\mu'$	1620 $\mu'$

Aus diesen sechs Versuchen scheint hervorzugehen, daß 30° noch keinen schädlichen Einfluß auf die Protoplasmaströmung hat, wenigstens die Geschwindigkeit in 24 Stunden ist nicht mehr herabgesetzt als wir bei 20—25° fanden. In Versuch 32 ist schon nach 3 Stunden eine bedeutende Verzögerung eingetreten, in Versuch 44 ist die Bewegung nach 4 Stunden im einen Haar verzögert, im anderen sogar beschleunigt, wie auch in Versuch 37. Aus Versuch 43 ist zu ersehen, wie übrigens zu erwarten war, daß mechanische Verletzungen die Strömung progressiv beeinträchtigen.

Vorübergehende Erwärmung 20° — 30° — 20°.

Wie schon im 5. Paragraphen erörtert, lag es in der Absicht, jeder Geschwindigkeitsbestimmung bei einer bestimmten Temperatur eine solche bei einer Normaltemperatur vorangehen und folgen zu lassen: eine vorher, um den Temperaturkoeffizient bestimmen zu können; eine nachher, um die Reversibilität der Zustandsänderung zu prüfen. Der Versuch wurde mit dem Heizschrank zweimal gemacht, wobei es sich aufs neue herausstellte, wie wenig dieser Appa-

rat den besonderen methodischen Anforderungen des Problems gewachsen war. Während eines zweistündigen Aufenthaltes bei 20° wurde die erste Messung vorgenommen, dann wurde möglichst schnell bis 30° geheizt; diese Temperatur wurde vom Wassermantel innerhalb 1 Stunde, von der Innenluft erst nach 3 Stunden erreicht. Nach der Bestimmung wurde auf 20° abgekühlt, welche Arbeit wiederum mehrere Stunden in Anspruch nahm.

Versuch 54.

			Haar I.	Haar II.
Temp.	20°.	Nach 1½ St.	960 $\mu'$	960 $\mu'$
"	30°.	" 4 St.	1640 $\mu'$	1650 $\mu'$
"	20°.	" 23 St.	710 $\mu'$	770 $\mu'$

Versuch 55.

Temp.	20°.	Nach 1½ St.	920 $\mu'$	830 $\mu'$
"	30°.	" 5½ St.	1580 $\mu'$	1430 $\mu'$
"	20°.	" 23 St.	730 $\mu'$	670 $\mu'$

Berechnet man hieraus die Temperaturkoeffizienten 30°/20°, so erhält man

aus Versuch 54	1.71	und	1.71
aus Versuch 55	1.72	und	1.73

somit eine verblüffend genaue Übereinstimmung, die ich als eine vorläufige Rechtfertigung des hier gewählten Verfahrens der Koeffizientenbestimmung ansehen möchte.

Berechnet man weiter das Verhältnis der zweiten Zahl für 20° zur ersten, so bekommt man die Größen (die also ein Maß für die Irreversibilität der Schädigung abgeben):

0.74 und 0.80; 0.79 und 0.81.

Auch diese Übereinstimmung im Grade der Geschwindigkeitsabnahme, auf die ich schon bei Versuch 49 die Aufmerksamkeit lenkte, muß irgendeine Bedeutung haben. Jedenfalls steht fest, daß die Pflänzchen zwischen der ersten und der zweiten Messung bei 20° irgendwie eine Schädigung erlitten haben; das klumpige Aussehen des Protoplasmas in beiden Versuchen nach 23 Stunden zeigte das schon an. Aber man hat zugleich die Überzeugung, daß

nicht die Erhitzung auf  $30^{\circ}$  an sich die Schädigung bewirkt hat: und das ist eben eine Möglichkeit, die bei den Versuchen nach Blackman ausgeschlossen sein soll.

Konstante Temperatur  $35^{\circ}$ .

Versuch 29. Vorherige Normalbestimmung.

Temp. $25^{\circ}$ .	Nach 1	St. 1310 $\mu'$
„ $35^{\circ}$ .	„ $3\frac{1}{2}$	St. 1910 $\mu'$
	„ $4\frac{1}{2}$	St. 1890 $\mu'$
	„ $5\frac{1}{2}$	St. 1750 $\mu'$
	„ 7	St. 1810 $\mu'$
	„ 8	St. 1860 $\mu'$
	„ 9	St. 1850 $\mu'$

Versuch 38. Ohne Normalbestimmung.

Nach $1\frac{1}{2}$ St.	2159 $\pm 20 \mu'$	2200 $\pm 29 \mu'$
„ $6\frac{1}{2}$ St.	1913 $\pm 28 \mu'$	1850 $\pm 30 \mu'$
„ 20 St.	1664 $\pm 23 \mu'$	1518 $\pm 28 \mu'$

In Versuch 29 ist die Geschwindigkeit bei  $35^{\circ}$  unregelmäßig, hat aber 6 Stunden nach Anfang der Erhitzung nur wenig abgenommen. In Versuch 38 ist jedoch nach  $6\frac{1}{2}$  Stunden eine deutliche Verzögerung eingetreten; die Struktur des Plasmas ist dann schon heterogen; schließlich, nach 20 Stunden, findet man nur große vakuierte Klumpen.

Konstante Temperatur  $38^{\circ}$ .

Versuch 40. Ohne Normalbestimmung. Pflanze in Färbegläschen eingebettet.

Temperatur.		Haar I.	Haar II.
37.75—37.90 $^{\circ}$	Nach $\frac{1}{2}$	St. 2030 $\mu'$	2250 $\mu'$
37.95—37.95 $^{\circ}$	„ 1	St. 2300 $\mu'$	2230 $\mu'$
37.80—37.90 $^{\circ}$	„ $1\frac{1}{2}$	St. 2360 $\mu'$	2150 $\mu'$
37.90—37.95 $^{\circ}$	„ 2	St. 2200 $\mu'$	2250 $\mu'$
37.95—37.95 $^{\circ}$	„ $2\frac{1}{2}$	St. 2200 $\mu'$	2280 $\mu'$
38.00—38.00 $^{\circ}$	„ 3	St. 2170 $\mu'$	2550 $\mu'$
38.00—38.00 $^{\circ}$	„ $3\frac{1}{2}$	St. 2200 $\mu'$	2330 $\mu'$
38.00—38.00 $^{\circ}$	„ 4	St. 2060 $\mu'$	2250 $\mu'$
38.10—38.30 $^{\circ}$	„ $4\frac{1}{2}$	St. 2070 $\mu'$	2200 $\mu'$
38.30—38.30 $^{\circ}$	„ 5	St. 1990 $\mu'$	2120 $\mu'$
38.15—38.20 $^{\circ}$	„ $5\frac{1}{2}$	St. 1990 $\mu'$	1930 $\mu'$
38.30—38.30 $^{\circ}$	„ 6	St. 2050 $\mu'$	2300 $\mu'$

Obwohl der Schrank vor dem Einbringen des Objektes schon auf  $38^{\circ}$  geheizt worden war, hat offenbar das Öffnen des Deckels usw. das Temperaturgleichgewicht auf längere Zeit gestört, so daß erst nach 4—5 Stunden die „Anfangsgeschwindigkeit“ bei  $38,30^{\circ}$  bestimmt werden konnte (vorausgesetzt, daß der Mikroskopist schon die Temperatur der umgebenden Luft angenommen hatte!). Dann aber war die Geschwindigkeit schon im Abnehmen begriffen; teilweise vielleicht, weil das Präparat anfang auszutrocknen; nach 5 Stunden wurde Wasser beigegefüllt. Nach  $5\frac{1}{2}$  Stunden weist II keine Störung mehr auf, die Bewegung stockt während der Messung, alles Protoplasma hat sich in der Haarspitze angesammelt. Nach 5.40 ist dieser Klumpen in lebhafter Bewegung begriffen, ein Haufen trennt sich ab und schwimmt fort, kehrt nach 5.47 zurück, verursacht ein starkes Gewühl in der Masse, woraus ein neuer Klumpen fortströmt. Nach 5.52 erreicht die innere Strömung einen Höhepunkt, immer neue Klumpen reißen sich los; nach 6 Stunden ist fast alles Plasma wieder frei. Diese auffallenden Erscheinungen hängen wahrscheinlich mit dem Austrocknen zusammen.

Die Schädlichkeit dieser hohen Temperatur kann nach diesen Daten nicht beurteilt werden. Jedenfalls scheint die Verzögerung nach 6 Stunden nicht ansehnlich zu sein.

#### Konstante Temperatur $39^{\circ}$ .

Versuch 42. Pflanze in Petrischale eingebettet, um dem Austrocknen möglichst lange vorzubeugen.

Temperatur.		Haar I.	Haar II.
38.85—39.05°	Nach 1	St. 2520 $\mu'$	2550 $\mu'$
39.00—39.10°	„ $1\frac{1}{2}$	St. 2310 $\mu'$	2520 $\mu'$
39.20—39.90°	„ 2	St. 2200 $\mu'$	2490 $\mu'$
39.50—39.65°	„ $2\frac{1}{2}$	St. 2250 $\mu'$	2490 $\mu'$
39.35—39.50°	„ 7	St. 2280 $\mu'$	2310 $\mu'$
39.35—39.40°	„ $7\frac{1}{2}$	St. 2080 $\mu'$	2330 $\mu'$
39.00—39.15°	„ 8	St. 2040 $\mu'$	2200 $\mu'$
39.00—39.25°	„ $8\frac{1}{2}$	St. 2000 $\mu'$	2250 $\mu'$

(Während der Beobachtung nach 2 Stunden trat am Regulator ein Defekt auf, infolgedessen die Temperatur zu hoch stieg.)

Es ist auffallend, daß nach  $8\frac{1}{2}$  Stunden bei  $39^{\circ}$  noch keine Wärmestarre auftritt. In einem anderen Versuche wurde der Schrank von  $25^{\circ}$  an möglichst schnell erhitzt; nach 2 Stunden war die Lufttemperatur  $38^{\circ}$ , die Geschwindigkeit<sup>1</sup>  $1600\text{--}1700\mu'$ ; nach  $2\frac{1}{2}$  Stunden die Temperatur  $40.8^{\circ}$ , die Geschwindigkeit  $1000$  bis  $1500\mu'$ ; nach  $2\frac{3}{4}$  Stunden  $41.1^{\circ}$  bzw.  $600\text{--}700\mu'$  usw. Hier trat die Starre also schon bei  $40^{\circ}$  in die Erscheinung; vielleicht war darauf der Umstand, daß mit einer schwächlichen Pflanze im November gearbeitet wurde, von Einfluß. Die Reversibilität der Verzögerung konnte mit diesem Apparat offenbar nicht geprüft werden.

### § 8. Zusammenfassung.

1. Für das Blackman'sche Schema sind, wenn es auf die Protoplasmaströmung angewendet wird, absolute Geschwindigkeitszahlen unbrauchbar; alle Bestimmungen sollen auf eine Normaltemperatur bezogen werden.

2. Der „Mikrothermostat“ soll daher nicht nur auf genaue Konstanterhaltung einer Versuchstemperatur, sondern nicht weniger auf leichte sichere Einstellung jeder beliebigen Temperatur und auf beliebige „Erhitzungsgeschwindigkeit“ eingerichtet sein.

3. Die Literatur über mikroskopische Heiz- und Gefrierapparate hat nur wenige gute Prinzipien und keinen einzigen universell anwendbaren „Mikrothermostat“ zu verzeichnen.

4. Ein neuer elektrisch geheizter und regulierter Mikroskopschrank wird vorgeführt. Dieser Thermostat eignet sich besonders für Konstanterhaltung einer bestimmten Temperatur, sehr schlecht für Temperaturwechsel.

5. Versuche zur Konstruktion eines wasserdurchströmten „Heiztisches“ und eines „Heizrohres“ mit elektrischer Heizung und

<sup>1</sup> Einzelne Messungen. Bei diesen hohen Temperaturen, wo die Schädigung schnell vor sich geht, verliert die statistische Methode offenbar ihren Zweck, und muß man sich mit Einzelbestimmungen begnügen.

Regulierung, und die vorteilhafteste Arbeitsweise, werden beschrieben.

6. Das Heranzüchten des Pflanzenmaterials (*Trianea* und *Avena*), und die Ausführung der Messungen und Berechnungen werden dargestellt.

7. Die Geschwindigkeit der Protoplasmaströmung nimmt in längeren Zeiträumen stetig ab, ohne daß es gelungen ist, schädliche Einflüsse ( $\text{CO}_2$ -Ansammlung,  $\text{O}_2$ -Mangel, zu hohe Temperatur, Alterszustand, oligodynamische Wirkungen, Lichtmangel) dafür verantwortlich zu machen; dieser unbekannte Faktor war Ursache, daß die Untersuchung aufgegeben wurde.

8. Sogar eine Temperatur von  $38^\circ$  scheint von *Trianea* längere Zeit ohne Schaden ertragen zu werden.

9. Die unter 1. angedeutete Methode der Koeffizientenbestimmung wird für  $30^\circ/20^\circ$  erprobt und ergibt in schöner Übereinstimmung 1.71.

Zeist, im Dezember 1921.

---

