

Zu einem formalen Bilde B gehört nur eine einzige Klasse:

1°. wenn die universelle Ueberlagerungsfläche von μ' offen ist.

2°. wenn die universelle Ueberlagerungsfläche von μ' geschlossen, μ aber offen ist.

3°. wenn μ' den Zusammenhang der projektiven Ebene besitzt, μ einseitig und geschlossen ist, wenigstens ein einseitiger Rückkehrschnitt von μ zweiseitig abgebildet wird und eine, mithin alle zu B gehörigen Abbildungen ungerade sind.

Zu einem formalen Bilde B gehören zwei Klassen:

1°. wenn μ' den Zusammenhang der Kugel besitzt und μ einseitig und geschlossen ist. Das entsprechende Kriterium besteht in der Parität der zugehörigen Abbildungen.

2°. wenn μ' den Zusammenhang der projektiven Ebene besitzt, μ zweiseitig und geschlossen ist und wenigstens ein Rückkehrschnitt von μ einseitig abgebildet wird. Das entsprechende Kriterium besteht in der Parität der auf der zweiseitigen Verdoppelung von μ' gemessenen Grade der zugehörigen Normalabbildungen.

3°. wenn μ' den Zusammenhang der projektiven Ebene besitzt, μ einseitig und geschlossen ist, wenigstens ein einseitiger Rückkehrschnitt von μ zweiseitig abgebildet wird und eine, mithin alle zu B gehörigen Abbildungen gerade sind. Das entsprechende Kriterium besteht in der Parität der auf der zweiseitigen Verdoppelung von μ' gemessenen Inhalte der zugehörigen Normalabbildungen.

Zu einem formalen Bilde B gehören unendlichviele Klassen:

1°. wenn μ' den Zusammenhang der Kugel besitzt und μ zweiseitig und geschlossen ist. Das entsprechende Kriterium besteht im Grade der zugehörigen Abbildungen.

2°. wenn μ' den Zusammenhang der projektiven Ebene besitzt, μ zweiseitig und geschlossen ist und alle Rückkehrschnitte von μ zweiseitig abgebildet werden. Das entsprechende Kriterium besteht im absoluten Werte des zugehörigen auf der zweiseitigen Verdoppelung von μ' gemessenen Abbildungsgrades.

3°. wenn μ' den Zusammenhang der projektiven Ebene besitzt, μ einseitig und geschlossen ist und alle einseitigen Rückkehrschnitte von μ einseitig abgebildet werden. Das entsprechende Kriterium besteht im absoluten Werte der Grade der zugehörigen Abbildungen der zweiseitigen Verdoppelung von μ auf die zweiseitige Verdoppelung von μ' .

Kryo-Biology. — „Einwirkung sehr niedriger Temperaturen auf die Moosfauna“. By P. GILBERT RAHM (at Maria Laach). (Versuche im physikalischen Laboratorium der Universität Leiden und der kryologisch-biologischen Versuchsstation des Niederländischen Kälte-Vereins, Leiden Communications Suppl. N°. 43b). (Communicated by Prof. H. KAMERLINGH ONNES).

(Communicated at the meeting of June 26, 1920).

Als „Moosfauna“ im allgemeinen bezeichne ich nach dem Vorschlag FR. HEINIS (cf. „Systematik und Biologie der moosbewohnenden Rhizopoden, Rotatorien und Tardigraden der Umgebung von Basel mit Berücksichtigung der übrigen Schweiz“. Archiv für Hydrobiologie und Planktonkunde. Stuttgart 1910. Bd. V. Heft 2, p. 91) „die Gesamtheit der in den Moos = resp. Flechtenrasen vorkommenden Tiere“. Diese Definition umfasst sowohl die:

I. *Bryophilen Formen*, d.h. solche, die in den Moosrasen „ihre Existenzbedingung“ finden. [cf. RICHTERS, F. Die Fauna der Moosrasen des Gaussberges und einiger südlicher Inseln“. Deutsche Südpolar-Expedition 1901—1903, Berlin 1907. (Zoologie), p. 292]. Ihre Nahrung können die lebende Moospflanze, organischer Detritus, und andere Tiere sein. [cf. HEINIS l.c.p. 91].

II. *Bryoxene Formen*, d.h. solche, die entweder nur während einer bestimmten Entwicklungsperiode im Moose leben oder zufällig im Moosrasen gefunden werden.

Zur ersten Gruppe gehören Protozoen, Rotatorien, Nematoden, Tardigraden und Gamasiden.

Zur zweiten Gruppe rechnet HEINIS [l.c. p. 91]. Larven von Lauf- und Rüsselkäfern, Fliegenlarven, Myriopoden, Arachniden, Mollusken etc.

In der folgenden Arbeit findet der Hauptsache nach nur die Moosfauna im engeren Sinne Berücksichtigung, vor allem die Gruppen der *Tardigraden* (Bärtierchen), *Nematoden* (Fadenwürmer), und *Rotatorien* (Rädertierchen).

Da diese Tiere in grossen Mengen die Moosrasen der kalten Zone bewohnen, müssen sie auch eine grosse Anpassungsfähigkeit an niedere Temperaturen besitzen.

Prof. F. RICHTERS, der berühmte Altmeister der Moosfauna, untersuchte Bryum-Rasen vom Gaussberg, in dem -41° C. gemessen wurde. [RICHTERS l.c.] Ueberhaupt scheinen die Moose der kälteren Gegenden das Dorado der Moosfauna zu sein, während die Tropen nach den Angaben MURRAYS und RICHTERS relativ arm an Moosbewohnern im engeren Sinne sind.

Von diesem Gesichtspunkte ausgehend stellte ich im Oktober und November 1919 im chemischen und physikalischen Institut der Bonner Universität mit Tieren der oben genannten Moosfauna einige Temperaturversuche an. Eine kurze Zusammenfassung der Ergebnisse ist in den Sitzungsberichten der Niederrheinischen Gesellschaft für Natur- und Heilkunde zu Bonn 1920 (1919) p. 21—23 veröffentlicht.

Es zeigte sich, dass verschiedene Gruppen von Tieren, die die Fähigkeit besitzen, mit den Moosen auszutrocknen und nach dem Anfeuchten des Moores wiederaufzuleben, im trockenen sogenannten asphyktischen Zustand sehr tiefe Temperaturen ertragen können. Temperaturen von *c.* -183° C., die mittels flüssiger Luft erzielt wurden, überstanden die Versuchstiere, Tardigraden, Rotatorien und verschiedene Arten von Nematoden *schadlos 26 Stunden lang.*

Da ich in Bonn keine Gelegenheit hatte, noch tiefere Temperaturen herzustellen, wandte ich mich an den Leiter des Kryogenen Instituts, Herrn Prof. Dr. KAMERLINGH ONNES, mit der Bitte, mir zu gestatten, in seinem weltberühmten Institut einige Versuche mit flüssigem Wasserstoff, wenn möglich auch mit flüssigem Helium, ausführen zu dürfen. Herr Prof. Dr. KAMERLINGH ONNES schrieb mir gütigst zurück, dass mir so viel flüssiger Wasserstoff zur Verfügung stehe, als ich zu meinen Versuchen benötige. Ich erhielt sogar die freundliche Zusage, mit flüssigem Helium arbeiten zu dürfen, falls nach den Versuchen mit flüssigem Wasserstoff sich dazu die Notwendigkeit ergebe.

I. Versuch mit flüssiger Luft.

Da ich in Leiden auch über beliebige Mengen flüssiger Luft verfügen konnte, bat ich den Conservator des kryogenen Instituts, Herrn Dr. CROMMELIN, zunächst einen Versuch mit flüssiger Luft der sich auf einige Tage erstrecken sollte, ausführen zu dürfen. Die Moosproben wurden in leichtes Papier eingehüllt in einem Gazebeutel, der mittels einer Bleikugel beschwert war, sofort in ein bereitstehendes Bad von flüssiger Luft getaucht. Die Tiere befanden sich in den lufttrockenen Moosen im asphyktischen Zustand. *Der Versuch dauerte 125 Stunden.*

Nach dem Wiederanfeuchten bald nach dem Versuch erwachten fast sämtliche Tiere in verhältnismässig kurzer Zeit. Die folgende Tabelle soll eine Uebersicht über die Versuchstiere, die Dauer ihres Trockenschlafes und die Zeit ihres Wiederaufwachens geben.

TABELLE I.

Bad in flüssiger Luft.

Dauer: 125 Stunden.

Zeit: 11. II. 1920 bis 16. II. 1920.

Temperatur: *c.* -190° C.

Moosart.	Wiedererwachen.			
	Trockenschlaf.	Rotatorien.	Tardigraden.	Nematoden.
A. <i>Grimmia spec.</i> von einem Strohdach aus Amerongen.	8 Tage.	<i>Adineta barbata</i> Jans. Die I. in 16 Min.	<i>Macrobiotus Hufelandi</i> C. Schultze. Der I in 19 Minuten, andere in 32 M.	<i>Plectus rhizophilus</i> De Man. Der I. juv. in 33 Minuten, sen. in 46 Minuten.
B. <i>Tortula ruralis</i> Ehrh. von einer Gartenmauer aus Honnef a. Rhein.	16 Tage.	<i>Callidina constricta</i> Duj. Die I. in 5 Minuten.		
C. <i>Racomitrium spec.</i> bei Scheveningen an den Dünen.	5 Tage.	Gen.? spec.? Das I. in <i>c.</i> 20 Minuten.		<i>Plectus parietinus</i> Bast. Der I. in 70 Minuten.

Wurden die Moosproben nach dem Kälteexperiment längere Zeit aufbewahrt, ehe sie angefeuchtet wurden, so erwachten die Tiere gewöhnlich etwas später. Eine allgemeine für alle Tierarten gültige Regel liess sich mit Sicherheit noch nicht ableiten. 3 Monate später wurde z. B. eine Probe von A untersucht und nach dem Wiederanfeuchten erwachte ein Rotator fast genau zu der in Tabelle I angegebenen Zeit, eher noch ein bis 2 Minuten früher. Die Rotatorien von C brauchten indes volle 2 Stunden, bis sie nach dreimonatlichem Trockenschlaf ihre volle Lebenstätigkeit wiedererlangten. 2 *Echinicus*-Arten (gepanzerte Tardigraden) erwachten nach mehr als dreimonatlichem Trockenschlaf in B nicht mehr. Die Kälte hierfür verantwortlich zu machen, scheint mehr als fraglich, wie aus spätern Versuchen klar hervorgeht. Eher könnte man sagen, dass diese Tiere schon vorher durch das Austrocknen geschädigt wurden. Denn die Fähigkeit der Versuchstiere wiederholt auszutrocknen und wiederaufzuwachen, ist nicht unbegrenzt.

II. Versuch mit flüssigem Wasserstoff.

TABELLE II.

Dauer: 26 Stunden.

Zeit: 11. II. bis 12. II. 1920.

Temperatur: -253° C.

Moose.	Trockenschlaf.	Wiedererwachen.		
		Rotatorien.	Tardigraden.	Nematoden.
A. wie I.	8 Tage.	Adineta barbata Jans. in c. 15-20 Minuten.	Macrobiotus Hufelandi C. Schultze in 20 Minuten.	Plectus rhizophilus De Man 25 Minuten.
B. wie I.	16 Tage.	Callidina constricta Duj. in 3 Minuten.		
C. wie I.	5 Tage.	In 18 Minuten ein Rotifer spec.? Callidina brauchten mehr.		

Vergleicht man Tabelle I und II, so findet man kaum bedeutende Unterschiede. Als Regel scheint festzustehen, dass Rotatorien am schnellsten nach dem Wiederanfeuchten zum Leben zurückkehren; es folgen die Tardigraden und zuletzt die Nematoden. Ferner scheint ein ganz kurzer Trockenschlaf mit folgendem kalten Bad auf das Wiedererwachen verzögernd zu wirken. Man vergleiche z. B. das über Rotatorien Gesagte in Tabelle I und II.

III. Versuch mit flüssigem Helium.

Da Herr Prof. Dr. KAMERLINGH ONNES durch Krankheit verhindert war, während meines Aufenthaltes in Leiden flüssiges Helium herzustellen, bat ich Herrn Conservator Dr. CROMMELIN, die Versuche für mich auszuführen, sobald sich eine Gelegenheit dazu bietet. Herr Prof. Dr. KAMERLINGH ONNES besass die grosse Freundlichkeit, die Versuche selber zu leiten. Die Moose wurden dann sofort nach dem kalten Bad mir zur Untersuchung nach Bonn gesandt.

Dem Briefe des Herrn Prof. Dr. KAMERLINGH ONNES vom 16. III. 1920 entnehme ich folgendes:

„Am 10. III 1920 12^u wurden die Moose lufttrocken in den Helium-Apparat gebracht. Dieser wurde dann — was für die Heliumverflüssigung nötig ist — luftleer gepumpt, blieb 24 Stunden luftleer bei gewöhnlicher Temperatur stehen, wurde sodann mit Heliumgas

bei gewöhnlicher Temperatur gefüllt und langsam 2 Grad pro Minute abgekühlt bis -150° C. Es wurde sodann das Präparat mit flüssigem Helium überschüttet und blieb in demselben von 1^u bis 8^u, 45^m. Während 2 Stunden wurde die Temperatur auf $1^{\circ},22$ K erniedrigt.

TABELLE III.

Dauer: $7\frac{3}{4}$ Stunden vgl. auch das im vorigen Abschnitt Gesagte.Zeit: 10. III — 11. III im Vacuum, 11. III 12^h — 8^h, 45^m im flüssigen Helium.Temperatur: -269° C bis $-271,88^{\circ}$ C.

1. Für Moos B. erste Untersuchung 21. III. 1920.

Tag der Untersuchung.	Wiedererwachen.		
	Rotatorien.	Tardigraden.	Bemerkungen.
21. III. 1920.	1. Callidina nach 91 Minuten.	Echiniscus trifilis (neue Art) sen. nach 23 Min. juv. „ 31 „	Nach 8 Stunden waren fast alle Tiere munter.
24. III. 1920.	Alle lebend.	Fast alle lebend.	
26. III. 1920.	„ „	7 noch lebend.	
28. III. 1920.	„ „	Einige schlüpften aus den Eiern.	
7. IV. 1920.	„ „	Zahl d. lebenden Tiere nimmt ab.	
12. IV. 1920.	„ „	Nur einer lebend.	
14. IV. 1920.	Einige lebten.	Alle tot.	

2. Für Moos B zweite Untersuchung.

Am 28. IV. 1920. 10^h,45^m morgens eine neue Probe angefeuchtet.

Tag der Untersuchung.	Wiedererwachen.	
	Echiniscus trifilis n. spec.	Milnesium tardigradum Doy.
28. IV. 1920. 10 ^h ,45 ^m .	In einer Stunde war der erste alte Echiniscus erwacht; es folgte einer von mittlerer Grösse.	Nach einer Stunde und 13 Minuten erste Bewegung.
29. IV. 10 ^h morgens.	Noch ein alter munter.	sehr lebhaft.
29. IV. 2 ^h ,5 ^m .	Auch ein junger erwacht.	„ „
29. IV. 5 ^h .	Viele alte und junge erwacht.	„ „

Dann alles von neuem eintrocknen lassen.

Tag der Untersuchung	Wiedererwachen.	
	Echiniscus trifilis non spec.	Milnesium tardigradum.
4. V. 11 ^h , 2 ^m morgens.	Bis 6. V. nichts mehr erwacht.	
6. V. 4 ^h , 47 ^m .	Ein junger aus dem Ei geschlüpft	
7. V.	Alles tot.	Alles tot.

Parallelversuch, um zu prüfen, ob die Schäden beim Wiedereintrocknen nach dem kalten Bad auf das Kälteexperiment zurückzuführen sind oder ob die Versuchstiere überhaupt ein mehrmaliges Wiedereintrocknen nicht schadlos ertragen können.

DENIS LANCE schreibt in seinen Thèses présentées à la Faculté des sciences de Paris pour obtenir le grade de docteur des sciences naturelles, Paris 1896, „9 bis 14 mal kann man die Tiere — gemeint sind Barentierchen (Macrobiotus) — austrocknen lassen. Die Zeit, die zur Wiederaufnahme der Lebenstätigkeit erforderlich ist, wächst mit der Zahl der Austrocknungen“. Ich muss gestehen, dass es mir noch nie gelang, Tardigraden spec. Echiniscus-Arten öfters als 5 bis 7 Mal auszutrocknen. Freilich hängt es auch ganz von dem Grad und der Dauer der Austrocknung ab. Macrobiotus ertragen mehr als die gepanzerten Echiniscus-Arten. Rotatorien sind am widerstandsfähigsten.

TABELLE IV.

Parallelversuch mit Moos B, das nur lufttrocken seit 23. I. 1920 aufbewahrt worden war.

Tag der Untersuchung und Stunde d. Anfeuchten.	Wiedererwachen.		
	Callidina spec.?	Milnesium tardigradum Doy.	Echiniscus trifilis.
7. V. 1920. 4 ^h , 49 ^m .	5 ^h , 14 ^m , also in 25 Minut.		5 ^h , 14 ^m , also in 25 Minut.
7. V. 1920. 5 ^h , 41 ^m .	6 ^h , 00 ^m , also in 19 Minut.	6 ^h , 13 ^m , also in 32 Minut.	6 ^h , 03 ^m , also in 22 Minut.
10. V. 1920. 9,24 ^h morgens.	9,50 ^h 3 junges schon sehr munter.	c. ¼ 11 ^h erwacht.	Nur einer 9,50 ^h mittelgross, alle andern schienen tot.

Dann alles eintrocknen lassen. 8. V. 8^h abends trocken.

Alles eintrocknen lassen. 11. V. 11^h abends alles trocken.

14. V. 1920. 8,35 ^h morgens.	9,13 ^h d. erste. 9,15 ^h 3 Stück.	c. 9,30 ^h .	10 ^h abends war einer aus dem Ei geschlüpft.
15. V. 1920. 8 ^h morgens.	Alle lebhaft.	Sehr munter.	Auch ein grösserer erwacht, ein alter bewegte sich auf Anstoss mit der Pinzette.

Alles eintrocknen lassen. 16. V. mittags trocken.

17. V. 1920. 8,35 ^h morgens.	8,50 ^h eine erwacht.	tot?	Alle scheinen tot.
11,30 ^h morgens.	sehr lebhaft.	tot.	Einer erwachener u. ein kleiner munter.

Vergleicht man die Tabellen mit einander, so wird man wohl sagen dürfen, dass das kalte Bad (besser wohl die durch das kalte Bad bewirkte Austrocknung) den Echiniscus Arten schädlich war.¹⁾

TABELLE V.

Bad in flüssigem Helium mit Moosart C. Allgemeine Bemerkungen s. p. 4—5.

Erste Untersuchung.

Dauer: s. p. 4—5.

Zeit: s. p. 4—5.

Temperatur: s. p. 4—5.

Tag d. Untersuchung u. d. Anfeuchten.	Rotator Callidina.	Macrobiotus Hufelandi.	Nematode Plectus parietinus.
21. III. 10,52 ^h morgens.	11,37 ^h , also in 45 M.		11,49 ^h , also in 58 Min. 12,10 ^h ein junger.
22. III. 10,30 ^h morgens.	sehr munter.	Einer war sehr munter. Zeit des Erwachens unbestimmt.	lebhaft.

In der folgenden Tabelle soll die Lebensdauer der einzelnen in Tabelle V angeführten Tiere verfolgt werden.

¹⁾ Anmerkung: Nach der Drucklegung wurden die in Tabelle IV mitgeteilten Untersuchungen fortgesetzt. Ich liess die Tiere noch zweimal eintrocknen. Echiniscen und Rotatorien erwachten auch noch nach der letzten, also 6. Austrocknungsperiode. Die Versuche werden fortgesetzt.

Datum.	Callidina.	Macrobiotus.	Plectus.	Bemerkungen.
22. III.	Sehr munter 2 Stück.	Stirbt am Abend.	2 kleine sehr munter.	Es erscheinen in der Schale Protozoen von ganz charakteristischer Gestalt, die ich noch in keinem anderen Moos beobachtet habe. Die Tiere schwimmen lebhaft umher. Ob nachträglich hineingekommen, bleibt fraglich. Mehrere Milben erwachten nicht mehr.
24. III.	» »		» »	
26. III.	» »		» »	
			Ein grosser Plectus parietinus Bast 0,6 mm gross doch nicht geschlechtsreif. Bei der Bestimmung leider getötet.	
27. III.	» »		Ein junger noch lebhaft.	
28. III.	» »			
29. III.			2 Nematoden sehr lebendig.	Viele Protozoen.
30. III.	Einer lebhaft.			
1-8. IV.	» »		» »	Protozoen nehmen ab.
9. IV.	Einer sehr lebhaft.	Sehr munter, wohl geschlüpft.	2 sehr lebhaft.	Junger Echiniscus trifidus lebte, starb aber bald nach Überführung in ein bes. Gefäss.
10. IV.	» »	lebt noch	Nur einer noch lebhaft.	
11. IV.			Nur auf Anstoss hin erfolgt Bewegung des Kopfes.	
14. IV.	tot.	tot.	tot.	Viele kleine Protozoen.

Zweite Untersuchung v. Moos C.

Tag der Untersuchung bzw. des Anfeuchtens.	Rotatorien. Callidina. spec.?	Nematoden. Plectus parietinus.	Bemerkungen.
29. IV. 8,45 ^h morgens.	9,53 ^h eine sehr lebhaft.	Nur ein junger erwachte, 2 alte erwachten bis 10 V. nicht mehr.	Die merkwürdigen Protozoen s. oben erscheinen wieder, also doch nicht nachträglich hineingekommen.

IV. Versuch. Bad in flüssigem Wasserstoff.

Um zu erproben, wie die Versuchstiere sich verhalten, wenn sie bereits völlig aus dem Trockenschlaf erwacht und im Wasser ihre Bewegungen aufgenommen haben und dann einfrieren, wurden bereits im verflossenen Winter im Bonner Chemischen Institut Versuche angestellt. Eine Kältemischung von -81° C., die mehrere Stunden einwirkte, überstanden bei langsamen Einfrieren fast alle Versuchstiere. Selbst die Kälte der flüssigen Luft schadete den Tieren nicht, wenn man die Kälte anfangs langsam einwirken liess¹⁾. Liess man aber das Wasser, in dem sich die Tiere befanden, plötzlich einfrieren, so war der Prozentsatz der Tiere, die nach dem Auftauen lebten, sehr gering. Im Kryogenen Institut der Universität Leiden wurden folgende Versuche ausgeführt:

1. 2 Moosproben „wurden zuerst angefeuchtet und eingewickelt in ein bischen Gaze und am 20. März 1920 von 10^h bis 4^h langsam abgekühlt im Dampf von flüssiger Luft. Sodann wurden sie eingetaucht in flüssige Luft. Sie blieben darin bis 12. März 11^h. (Also c. 2 Tage). Dann wurden sie aus der flüssigen Luft genommen und gleich in flüssigen Wasserstoff gebracht und blieben hierin bis 13. März 10^h, 30^m. (Also c. 1 Tag). Darnach sind sie schnell auf gewöhnliche Temperatur gekommen“. Aus dem Brief des Herrn Prof. Dr. KAMERLINGH ONNES an mich vom 16. III. 1920.

Herrn Dr. DROOGLEVER FORTUYN hatte ich vor meiner Abreise aus Leiden gebeten, einen Teil dieser Proben nach dem Auftauen an Ort und Stelle zu untersuchen. Er hatte die grosse Freundlichkeit, mir über das Ergebnis am 13. III. 1920 zu berichten. „In der langsam abgekühlten Probe belebte sich schon nach 12 Minuten ein Nematode, welcher kräftige Bewegungen machte. Nach 20 Minuten belebte sich der erste Tardigrade, bald von vielen andern gefolgt“.

Die Proben wurden mir dann lufttrocken zugesandt. Das Ergebnis der Untersuchung sei in folgender Tabelle mitgeteilt.

¹⁾ Anmerkung: Liess man die Tiere im Wasser nochmals einfrieren, so waren die meisten nach dem Auftauen tot. Also hatte das kalte Bad doch die Widerstandskraft geschädigt. Es überstanden nur Rotatorien. Es kam bei diesem Versuch nur die Kältemischung von -81° C. zur Verwendung.

TABELLE VI.

Moosprobe A.

Dauer: 1 Tag in fl. Wasserstoff, 2 Tage fl. Luft.

Zeit: 10. III. 1920 bis 13. III. 1920.

Temperatur: — 253° C. bzw. — 192° C.

Tag der Untersuchung.	Callidina russeola Zel.	Macrobiotus Hufelandi.	Milnesium tardigradum.	Plectus rhizophilus.	Bemerkungen.
24. III. 5,35 ^h abends.	5,45 ^h also in 10 Minuten mittelgross.	6,20 ^h ziemlich lebhaft dunkel pigmentiert.	2 Stück noch schlafend.		
10,05 ^h abends	sehr lebhaft schwimmend.	Einer am Er-wachen, auch dunkel pigmentiert.	Einer bewegte sich auf Anstoss.	Noch schlafend.	
25. III. 9,45 ^h morgens.	2-3 sehr lebhaft.	Nur einer noch lebhaft.	» »	2 junge lebhaft.	
27. III. 11,25 ^h morgens.	» »	» »		Älterer erwacht.	
28. III.	» »	» »		sehr lebhaft.	
29. III. 8 ^h morgens	» »	tot.	tot.	2 kleine lebhaft.	Protozoen treten auf.
10 ^h abends.	» »	Ein kleiner, wohl geschlüpft.		» »	
30. III. 1 ^h mittags.	» »	Ein alter nimmt die Bewegung wieder auf.		» »	
6 ^h abends.	» »	Alter tot.		» »	
31. III.	» »			Dazu ein alter.	
1-7. IV.	» »			alle lebhaft	
7. IV. 3,15 ^h mittags.	» »	Ein alter lebhaft.		» »	
8. IV.	» »	» » »			
9. IV. 9 ^h morgens.	» »	Auch kleiner, wohl geschlüpft.			
10. IV. 9,15 abends.	» »	Der kleine sehr lebhaft.		alter sehr munter.	
11. IV.	» »	» »		» »	
12. IV.	» »	» »		» »	
14. IV.	» »	» »		» »	

Tag der Untersuchung.	Rotator.	Macrobiotus.	Nematoden.	Bemerkungen.
26. IV.	mehrere sehr lebhaft.	3 kleine, wohl geschlüpft.	Der alte sehr munter.	
28. IV.	» »	3 sehr munter.	» »	
1 V. 11,30 ^h morgens.	» »	» »	Dazu noch 2 jüngere.	
3. V.	» »	» »	» »	
6. V.	» »		Nur einen lebhaft gesehen.	
8. V. 8,55 ^h morgens.	» »	Einer sehr munter Macrob. echinogenitus Richters.	Einer lebhaft.	
9,40 ^h morgens.	» »		3 ziemlich erwachsen, munter.	Eine lebende Milbe, wohl nachträglich hineingekommen oder geschlüpft??
10. V.	» »	ein erwachsener Hufelandi lebhaft.	Ein grosser bewegte sich nur auf Anstoss.	
12. V.	träge Bewegungen auf Anstoss.	Ein Hufelandi mittelgross, dunkel, lebhaft,	Alle tot	
14. V.	Alles schien tot. Moosprobe A. 2. Untersuchung.			

Tag der Untersuchung.	Rotator.	Macrobiotus.	Nematoden.
5. V. 5,40 ^h abends.	9,40 ^h 2 kleine sehr lebhaft, wohl lange vorher erwacht.	6,30 ^h ein Hufelandi lebhaft.	9,40 ^h . Einer bewegte sich ein wenig.
6. V. 8,30 ^h morgens.	sehr lebhaft.	nocheiner erwacht.	
7. V. 8 ^h morgens.	schien alles tot.		
Moosprobe B. desselben Versuchs.			

Datum des Anfeuchtens und der Untersuchung.	Rotatorien Callidina.	Echiniscus trifilis non spec.	Bemerkungen.
24. III. 5,38 ^h abends.	9,55 ^h erste am Er-wachen. 10 ^h mehrere lebhaft.		

Datum der Untersuchung.	Rotatorien.	Echiniscus.	Bemerkungen.
25. III. 1920.	lebhaft.	alle tot.	
27. III. bis 30. III.	"		
31. III. 10 ^h morgens.	"	Einer schlüpft aus dem Ei.	Viele Protozoen erscheinen.
1. IV. bis 14. IV.	"	starb bald.	
14 IV. 10,20 ^h morgens.	"	Einer geschlüpft, 0,150 mm. gross.	Protozoen vermehren sich sehr stark.

Die Eier der Echinisci scheinen also bei weitem widerstandsfähiger zu sein wie die Tiere selbst. Es erwachte überhaupt kein erwachsener Echiniscus.

2. Ein *zweiter* Versuch wurde mit Moosproben gemacht, die *vorher angefeuchtet* und dann *plötzlich in flüssige Luft und in flüssigen Wasserstoff* getaucht wurden. Herr Prof. Dr. KAMERLINGH ONNES schrieb mir darüber am 13 III 1920: „Diese Probe wurde zuerst angefeuchtet und in Gaze eingewickelt und sodann 10 März 11^h plötzlich in flüssige Luft gebracht und blieb darin bis 12 März 11^h (also 2 volle Tage). Sodann wurde sie wie die vorige in flüssigen Wasserstoff getaucht und blieb darin bis 13 III. 10^h,30'' (also fast einen Tag.).

Herr Dr. DROOGLEEVER FORTUYN untersuchte auch von dieser Probe gleich nach dem Auftauen einen Teil und fand alles tot „wenigstens war nach 2 Stunden und 20 Minuten keine Bewegung sichtbar“. Brief vom 13 III, 1920.

Der übrige Teil der Probe wurde mir dann lufttrocken zugesandt. Das Ergebnis einer genaueren und längeren Untersuchung sei in folgender Tabelle mitgeteilt: p. 511.

Von den Moosproben waren *A und B zusammengesüttet* worden.

In einem andern Gefäss derselben Probe, die auch am 24. III angefeuchtet war, bemerkte ich erst am 8. IV eine Adineta lebhaft umherschwimmend. Vielleicht war das Tier inzwischen geschlüpft. Es lebte noch am 6. V. An diesem Tage bemerkte ich noch einen Rotifer lebhaft umherschwimmend ¹⁾.

Auf meine Anfrage hin teilte mir Herr Conservator Dr. CROMMELIN mit, dass die Moose 1 bis 1½ Stunden vor dem Kälte-experiment

¹⁾ Anmerkung: Rotatorien lebten noch am 25. IX. 1920. Aus den Eiern schlüpften viele Macrobiotien.

angefeuchtet wurden. Es ist also wohl ausgeschlossen anzunehmen, dass sich *Callidina russeola* Zel. beim Einfrieren noch im asphyktischen Zustand befand. Am 27. V waren sehr viele Rotatorien und einige Macrobiotien geschlüpft.

TABELLE VII.

Dauer: 3 Tage.

Zeit: 10. III. 1920 bis 13. III. 1920.

Temperatur: - 253° C. bezw. - 192° C. s. vorher.

Datum der Untersuchung.	Rotatorien.	Bemerkungen.
24. III. 10,55 ^h morgens.	Erst 4,55 ^h eine grosse <i>Callidina russeola</i> Zel. am Erweichen.	Viele tote Echiniscen, Macrobiotien, Rotatorien und Nematoden.
10,15 ^h abends.	sehr lebhaft, sich ausstreckend und schwimmend.	
25. III. bis 15. IV.	Meist sehr lebhaft, nur abends in Ruhe.	
16. IV. 9 ^h abends.	Bewegt sich nur auf Anstoss.	
25. IV.	Nur langsame träge Bewegungen.	
27. IV.	Bewegungen sehr träge.	
28. IV.	" " "	Das Tier war am Schlusse ziemlich abgemagert, obwohl ihm Detritus zur Verfügung stand.
29. IV.	reagiert kaum noch.	
1. V.	tot.	

Also ist kaum eine Schädigung durch das kalte Bad festzustellen. Die Tiere leben auch sonst nicht länger.

Zusammenfassung der bisherigen Ergebnisse.

I. Die Tiere der Moosrasen können im asphyktischen Zustand Temperaturen von - 271,8° C. mehrere Stunden ertragen. (Tardigraden, Nematoden und Rotatorien). Protozoen scheinen auch diese Temperaturen zu überstehen, bedürfen aber noch einer sorgfältigen Nachprüfung. Temperaturen von - 192° C. wurden 5 Tage lang schadlos ertragen. Auch die Eier dieser Tiere werden nicht geschädigt.

II. Ein ganz kurzer Trockenschlaf mit folgendem kalten Bad scheint auf das Wiedererwachen verzögernd zu wirken.

III. Am schnellsten erwachen Rotatorien; es folgen die Tardigraden und zuletzt die Nematoden.

IV. Durch die Kälte scheint die Fähigkeit der Echiniscus Arten, öftere Austrocknungsperioden zu überstehen, gemindert zu werden.

V. Lässt man die Tiere im wachen Zustand in Wasser langsam einfrieren, so ertragen die meisten die Temperatur -253° C. 24 Stunden schadlos. Eine Ausnahme scheinen die Echiniscen zu machen.

VI. Lässt man die Tiere im wachen Zustand in Wasser plötzlich einfrieren, so sterben die meisten in extremer Kälte. Nur Rotatorien können schadlos überstehen und die Eier der Macrobioten.

VII. Handelt es sich in den ersten Fällen, wo die Tiere im asphyktischen Zustand die tiefen Temperaturen ertragen, nur um eine Schädigung der Kälte als Wasserentziehung, die dem Austrocknen gleichkommt, (s. PÜTTER, vergleichende Physiologie, Jena 1911, p. 385), so liegen die beiden zuletzt berichteten Fälle N^o. V u. VI, doch wesentlich anders. Hier könnte auch noch eine „mechanische Zertrümmerung der Plasmastruktur“ in Betracht kommen.

Wirkt die Kälte langsam ein, so wäre es vielleicht möglich daran zu denken, dass die Kälte als Reiz wirkt, (sowie die beginnende Austrocknung des Mooses) in den asphyktischen Zustand überzugehen. Bei Fall VI scheint indes diese Erklärung nicht zuzutreffen.

Zum Schluss habe ich allen Herrn vom Kryogenen Institut zu danken, die am Zustandekommen der Versuche mitwirkten. In erster Linie herzl. Dank dem Leiter des Instituts, Herrn Prof. Dr. KAMERLINGH ONNES, der meinen Arbeiten so grosses Interesse entgegenbrachte und mir so grosses Entgegenkommen bewies. Herzlichen Dank auch dem Herrn Conservator Dr. CROMMELIN, Herrn Dr. DROOGLEEVER FORTUYN, die mich mit Rat und Tat unterstützten, nicht zu vergessen Herr Mechaniker FLIM, der das Material bereitwilligst herstellte, und Herr Stud. DELHEZ, der mir beim Untersuchen half.

Chemistry. — *“The velocity of the diazotisation reaction as a contribution to the problem of substitution in the benzene nucleus.”*

By Prof. J. BÖESEKEN, W. F. BRANDSMA and H. A. J. SCHOUTISSEN.

(Communicated at the meeting of February 28, 1920).

1. In regard to the problem of the substitution in benzene, the question has been considered whether only the group already present is decisive as to the place where the group newly introduced is to come or whether the nature of that new group too plays an important part.

Supposing the last alternative to be right, one of us¹⁾ has projected the following scheme of the subsequent stages during the substitution, by which at the same time the answer was given to the question why in one case meta-, in another case para- and ortho-derivatives are formed by preference.

If the acting molecule has an inclination to combine with group X of the benzene derivative C_6H_5X , then two courses may be taken:

a. The acting molecule combines or reacts with this group; then no substitution in the nucleus takes place.

b. The acting molecule has some inclination to combine with group X, which inclination however only tends to effect a shifting of affinity (electrones). In this case a change of condition will take place in the benzene nucleus, designated by him as a “chinoid shifting of the affinities”, and which consists of an accumulation of attraction at the para and at one of the ortho places.

If the acting molecule has no inclination to combine with group X, then no preference will be shown for ortho- and para-substitution and substitution of the meta H-atoms is sooner to be expected.

The stress in these considerations is therefore laid on the affinity between the molecule to be introduced and the group already present; an experimental illustration and eventually a confirmation of this theory may be expected, if quantitative data can be acquired on this reciprocal effect. When e.g. we could determine the rate of

¹⁾ BÖESEKEN: Koolwaterstoffen II, (Hydrocarbons II, edited by WALTMAN, Delft) page 125—127 and 134—137. See also these Proc. of March 30, 1912.