

# BOTANISCHE ZEITUNG.

Redaction: H. Graf zu Solms-Laubach. J. Wortmann.

Inhalt. Orig.: M. W. Beyerinck, Culturversuche mit Zoochlorellen, Lichenengonidien und anderen niederen Algen. — Neue Litteratur. — Anzeigen.

## Culturversuche mit Zoochlorellen, Lichenengonidien und anderen niederen Algen.

Von

M. W. Beyerinck.

Hierzu Tafel VII.

I.

### Das Isoliren niederer Algen durch die Gelatinemethode.

Am 10. April 1889 bemerkte ich, dass das Wasser eines seichten Teiches in der Nähe von Delft durch mikroskopische Algen intensiv grün gefärbt war. Die grüne Farbe war beinahe ebenso stark, wie diejenige des Grases am Ufer; durch eine Schicht von einem Centimeter konnte Druckschrift nicht mehr gelesen werden. Der Teich war im Herbst 1888 der Heerd einer heftigen Fäulniss unter starker Gasentwicklung und Schwefeleisenbildung gewesen. Anfang Juni verschwand die grüne Farbe, so dass am Ende dieses Monats nichts mehr davon zu bemerken war.

In Bechergläsern im Laboratorium bewahrt, verdarb das Wasser bald infolge der Vermehrung reducirender Organismen; die grünen Zellen fielen zu Boden und waren nach 14 Tagen todt<sup>1)</sup>.

<sup>1)</sup> Der Teich hat im April 1890 nichts Besonderes gezeigt. Dagegen war ein Graben in dessen Nachbarschaft, worin, während des Winters 1889—1890, viel mit organischen Substanzen verunreinigtes Wasser entleert war, in diesem Jahre ebenfalls intensiv grün, durch eine ähnliche jedoch nicht identische Vegetation. Schon Ende Mai starben die grünen Zellen im Graben ab und es gelang nicht dieselben zu isoliren; der mikroskopischen Prüfung zufolge gehörten beinahe alle zu einer einzigen Art, *Chlorella infusiformis*, welche der unten zu besprechenden, *Chlorella vulgaris* nahe verwandt ist.

Die grünen Zellen waren so klein, dass das Wasser beim Filtriren durch doppeltes, schwedisches Filtrirpapier beinahe eben so grün durchlief, als wie es aufgegossen war.

Seit langer Zeit hatte ich gewünscht Reinculturen von niederen Algen zu besitzen, zur Ausführung gewisser Versuche über die Sauerstoffbildung im Chlorophyll. Das grüne Wasser eröffnete augenscheinlich eine viel versprechende Gelegenheit diesen Zweck zu erreichen. Ich täuschte mich darin nicht. Bald hatte ich zwei Arten daraus isolirt und Erfahrung gewonnen, durch welche ich auch die Culturbedingungen anderer Algen, von anderen Standorten beurtheilen konnte.

Die mikroskopische Prüfung des Wassers lehrte, dass verschiedene Algenarten sich an der Erzeugung der grünen Farbe beteiligten. Auffallend war dabei das vollständige Fehlen von Schwärmern, ja selbst von Schwärmersporen erzeugenden Algen überhaupt, sowie von Cyanophyceen.

Weitaus am häufigsten war eine Grünalge, welche ich für identisch halte mit der von Rabenhorst als *Chlorococcum protogenitum* bezeichneten Form, obschon, wie bemerkt, die Schwärmersporen dabei gänzlich fehlen, was mich zwingt für diese Alge einen besonderen Namen, *Chlorella vulgaris*, zu wählen (vergl. S. 730, Note 1). Uebrigens ist der Name ziemlich gleichgiltig, denn ich werde unten die Algen derart beschreiben, dass jeder dieselben leicht erkennen kann.

Die zweite Stelle der Häufigkeit des Vorkommens nach, erfüllte eine *Scenedesmus*art, nämlich *Sc. acutus* Meyen, welche ich ebenso, wie die vorige, isolirt habe. Ich hielt dieselbe, so lange ich unter sehr günstigen Ernährungsbedingungen cultivirte, wobei nur freie unverbundene Zellen entstehen, für ein neues *Raphidium*, und gab demselben den Namen

*R. naviculare* <sup>1)</sup>. Als ich aber später die zu Familien vereinigten Zellen kennen lernte, welche in nährstoffarmen Wasserculturen entstehen, war Täuschung unmöglich.

Weniger allgemein, obschon durchaus nicht selten, waren *Raphidium fasciculatum* Nägeli, *Scenedesmus obtusus* Meyen, *Sc. caudatus* Kützing, und noch einige andere *Scenedesmus*-arten, welche ich nicht sicher bestimmen konnte <sup>2)</sup>.

Um zu entscheiden, ob ich würde erwarten können, dass diese Algen sich durch die Gelatinemethode von einander und von den überauszahlreichen Bakterien trennen lassen, führte ich den folgenden vorläufigen Versuch aus.

Ein wenig des grünen Wassers wurde mit dem dreifachen Volumen einer 20 % Gelatinelösung in Grabenwasser gemischt, zu einer dünnen Schicht ausgegossen und erstarrt, wodurch eine sehr leicht grünlich gefärbte Platte entstand. Letztere wurde in einem Fenster ins volle Licht gestellt, und täglich, bezüglich der Farbenintensität, beurtheilt. Am fünften Tage sah ich, dass die Intensität der grünen Farbe vermehrt war und das Mikroskop lehrte, dass die Algenzellen sich zu kleinen Colonien von zwei bis acht Zellen getheilt hatten. Zwar begann die Gelatineplatte infolge des Bakterienwachsthums zu verflüssigen, allein die Möglichkeit der Trennung war erwiesen, und diese wurde folgendermassen ausgeführt.

Grabenwasser wurde, ohne Zusatz irgend einer anderen Nährsubstanz, mit 10 % Gelatine gekocht und auf die gewöhnliche Weise mit einem Tröpfchen des grünen Wassers

vermischt, ausgegossen und erstarrt. Ein solcher Boden ist so äusserst arm an assimilirbarem Stickstoff und an Phosphaten, dass alle, die Gelatine nicht verflüssigenden Bakterien, sich darin nur sehr unvollkommen vermehren. Hat man nur eine Spur des grünen Wassers gebraucht, so kann die Zahl der verflüssigenden Bakterien so gering werden, um in weiten Strecken der Platte zu fehlen, sodass diese während mehrerer Wochen fest bleiben kann, und erst, durch die Ausdehnung entfernter Colonien nach längerer Zeit verschmilzt. In diesen festen Stellen muss man mit der Loupe die intensiv grünen Colonien aufsuchen. Das Glück wollte, dass der Zusammenhang in diesen Colonien nur gering war, so dass die Vertheilung derselben in neue Nährgelatine und damit die vollständige Trennung von den Bakterien leicht gelang. Zwei Arten, welche für weitere Versuche gedient haben, wurden auf die beschriebene Weise isolirt, nämlich *Scenedesmus acutus* und *Chlorella vulgaris*.

Ich will zu deren gesonderten Besprechung übergehen.

## II.

### Beschreibung von *Scenedesmus acutus*.

Diese Art mit ihren beiderseits zugespitzten Zellen, welche zu Familien (b, Fig. 1), von gewöhnlich vier bis sechzehn Stück vereinigt sind, ist wohl jedem Mikroskopiker bekannt. Der Chlorophyllkörper lässt nur, — und das nicht einmal immer, — die Spitzen und einen seitlichen Mittelfleck ungefärbt; derselbe schliesst ein deutliches Pyrenoid und einige kleine stark lichtbrechende Tröpfchen oder Bläschen ein.

Jod färbt das durch das Chlorophyll gebildete feste Kohlenhydrat violettbraun, sozusagen die Mittelfarbe zwischen derjenigen von Jodamylum und Jodparamylum.

Die Zelltheilung findet statt durch Wände, welche, bezüglich der Längsaxe der Zelle schief gestellt sind. Irgend ein anderer Fortpflanzungsprocess als durch Zelltheilung findet nicht statt. Schwärmsporen fehlen vollständig, wie ich, auf Grund der während eines Jahres fortgesetzten successiven Culturen, in den verschiedensten Nährmedien, behaupten kann.

Beim Wachsthum in Wasser mit nur wenig organischen Substanzen bleiben die Zellen

<sup>1)</sup> Over Gelatineculturen van éencellige wieren. Vortrag gehalten im »Provinciaal Utrechtsch Genootschap« im Juni 1889.

<sup>2)</sup> Diese Beobachtung veranlasst mich hier die Namen von denjenigen »Infusionsthierchen« anzugeben, welche nach Ehrenberg (Die Infusionsthierchen als vollkommene Organismen, S. 122, Berlin 1838) die Grünfärbung stagnirender Gewässer veranlassen können. Es sind: *Monas bicolor*, *Uvella Bodo*, *Glenomorun tingens*, *Phacolomonas Pulvisculus*, *Cryptomonas glauca*, *Cryptoglena conica*, *Pandorina Morum*, *Gonium pectorale*, *Chlamidomonas Pulvisculus*, *Volvox Globator*, *Astasia sanguinea* (jung), *Euglena sanguinea* (jung), *E. viridis*, *Chlorogonium euchlorum* und *Ophrydium versatile*. Alle sind beweglich und wohl deshalb von Ehrenberg als »Infusionsthierchen« bezeichnet. Die von mir genannten Algen sind Ehrenberg sicher bekannt gewesen, allein, wohl nur wegen deren Unbeweglichkeit, von ihm nicht in sein System aufgenommen.

zu kleinen Familien vereinigt, welche in einer ebenen Fläche liegen, obschon die aufeinander folgenden Theilwände sich nach den drei Richtungen des Raumes rechtwinkelig schneiden, wobei jede acht- oder sechszellige Familie das Product einer einzelnen Mutterzelle ist, deren Zellwand schon frühzeitig abgestreift wurde und deren Theilproducte sich in zwei Etagen anreihen. Diese Etagen entsprechen dann den beiden Hemisphären der als Kugel gedachten Mutterzelle, wenn diese die erste Theilung erfahren hat.

Die wichtigsten Eigenschaften unserer Art, welche durch die Gelatineculturen entdeckt wurden, sind diese: 1. *Scenedesmus acutus* kann die Nährgelatine verflüssigen (e, Fig. 1). 2. *Sc. acutus* ernährt sich mit organischer Nahrung. 3. Uebersteigt der Gehalt der Culturflüssigkeit an organischen Nährstoffen ein gewisses Maass, so verlieren die Zellen ihre spitzen Enden, sie werden rund oder elliptisch (d, Fig. 1).

Diese Eigenschaften würden sich gewiss nicht bei einer in Wasser lebenden Grünalge haben voraussehen lassen.

Die Verflüssigung des Nährbodens findet nur dann statt, wenn derselbe arm ist an Nährsubstanzen. Sehr geeignet zur Demonstration der Erscheinung ist die obengenannte Lösung von 10 % Gelatine in Grabenwasser, ohne jede andere Zufügung. Das Verflüssigen geschieht zwar viel langsamer als bei den Bacterien, allein es ist sehr lange anhaltend, sodass schliesslich Sticheulturen in tiefen Reagensgläsern in einen dunkelgrünen Bodensatz, welcher von wasserklarer Flüssigkeit überdeckt ist, sich verwandeln (e, Fig. 1). Die Zellen sind dabei angeschwollen und die spitzen Enden abgerundet, sodass eine ellipsoidische Form entsteht. Dass die aus der Gelatine gebildeten Umwandlungsproducte als Nährstoffe für *Scenedesmus* fungiren, lässt sich daraus ableiten, dass auf Agar-Agar in Grabenwasser gelöst, ein kaum merkliches Wachstum sich zeigt. In Wasser, frei von organischen Substanzen, allein mit den notwendigen Salzen und etwas Ammonitrat, bleibt das Wachstum überhaupt gänzlich aus.

Extractreiche, z. B. mit Malzdecoct versetzte Gelatine wird nicht verflüssigt.

Ebenso wie bei den Bacterien und Pilzen beruht die Verflüssigung der Gelatine auf Ausscheidung eines tryptischen Enzyms durch die *Scenedesmus*-Zellen. Wasser, wo-

rin man etwas Eiweiss oder Gelatine zuvor mit Pankreaspulver zur Verflüssigung gebracht und dann aufgeköcht hat, ist dann auch ein ausgezeichnetes Nährsubstrat.

Aus mehreren Versuchen muss ich ableiten, dass für *Scenedesmus* nur Peptone (und vielleicht auch Amide) als Stickstoffquelle fungiren können, während Ammonsalze und Nitrate dafür untauglich sind.

Zucker, z. B. Rohrzucker, Glucose und Maltose können bei Gegenwart von Peptonen assimiliert werden. Ein schnelles Wachstum findet dabei nicht statt und selbst schon ziemlich geringe Zuckerbeimischungen (5 % und mehr) sind in Nährflüssigkeiten schädlich und Wachstum hemmend. Die Wirkung des Zuckers wird deshalb am Besten beurtheilt an dicken Impfstreichen auf festen Unterlagen, worin sich der zu untersuchende Körper vorfindet. Auf diese Weise verwendet kann nämlich ein höherer Zuckergehalt, ohne tödtlich zu sein, ertragen werden. So lässt sich *Scenedesmus* selbst cultiviren, — obschon das Wachstum dabei sehr langsam ist, — auf mit Gelatine erstarrtem Malzextracte, welches eben bis zu 12 % Maltose enthalten kann. Die Zellform (d, Fig. 1) wird dabei gänzlich abgerundet, die Theilung veranlasst nur die Entstehung endogener Kugeln, welche lange mit einander in Zusammenhang und von der Membran der Mutterzelle umhüllt bleiben. Solche Zellen übertreffen die normalen *Scenedesmus*-Zellen, welche 20  $\mu$  lang und 7  $\mu$  dick sind, sehr beträchtlich an Grösse, denn sie können zu Kugeln von 40  $\mu$  anschwellen. Im Innern häuft sich die eigenthümliche, zwischen Amylum und Parmylum in der Mitte stehende Substanz an; das Chromatophor verliert auf solchen substanzreichen Nährböden aber die frisch grüne Farbe und schliesslich sieht man vom Chlorophyllfarbstoff kaum etwas mehr.

### III.

#### *Chlorella vulgaris*<sup>1)</sup>.

Wir sahen schon früher, dass diese Art den Hauptantheil hatte an der Grünfär-

<sup>1)</sup> Ich musste mich entschliessen, für diese sehr gewöhnliche Alge einen besonderen Namen zu wählen, obschon ich, wie gesagt, glaube, dass Rabenhorst dieselbe als *Chlorococcum protogenitum* besprochen hat. Die Diagnose Rabenhorst's ist aber unvollständig. Nun bin ich der Ansicht, dass man sich bezüglich der Nomenclatur an die Vorschrift Darwin's

bung des Wassers im April 1889. *Chlorella vulgaris* gehört zu den sehr gemeinen Algenarten. Man findet dieselbe beinahe in jeder Probe Grabenschlamm und an den verschiedensten abgestorbenen Wasserpflanzen. Auch wird sie oft in Wasserflaschen im Laboratorium bemerkt, in soweit das Wasser mit gewissen organischen Körpern verunreinigt ist<sup>1)</sup>. Diese Art, welche die Gelatine nicht verflüssigt, selbst nicht nach andert-halbjähriger Cultur, wurde auf einer ganzen Reihe von Nährböden cultivirt. Auf 5 % Gelatine in einer entsprechenden Menge Leitungswasser gelöst, kamen z. B.: Erstens, 1 % durch Pancreaspulver geschmolzene Gelatine, 0,5 % salpetersaures Ammon und 0,5 % Kaliumphosphat. Zweitens, 0,8 % Pepton-siccum, 0,2 % Asparagin und 1 % Rohrzucker. Drittens, 0,5 % Pepton und 0,5 % Asparagin. Viertens, 0,5 % löslicher Stärke, 0,5 % Asparagin und Pepton. Fünftens, keine Zufügungen<sup>2)</sup>.

Während das Wachstum auf diesen so verschiedenen Nährböden anfangs ziemlich gleich schnell war, so liess sich doch schliesslich in der gesammten Quantität neugebildeter Zellen ein sehr bedeutender Unterschied bemerken und zwar in dem Sinne, dass die zweite Mischung, welche also Rohrzucker, Pepton und Asparagin enthielt, weitaus am fruchtbarsten war. Dieses veranlasste mich, erstens den Rohrzucker durch Glucose oder Maltose zu ersetzen, — es ergab sich, dass auch diese Zuckerarten leicht assimilirt werden. Ferner suchte ich durch Weglassen von Pepton und alleinige Zugabe von Aspara-

»Man solle sich auf die beste und vollständigste Monographie basiren«, halten muss. Desshalb ist Wille, der die Algen für Engler's und Prantl's »Natürliche Pflanzenfamilien« bearbeitet, meine Autorität. Wille nimmt die Gattung *Chlorococcum* in einer solchen Fassung, dass *Chlorella* wegen Mangel an Zoosporen darin nicht untergebracht werden kann, und *Chlorella* selbst scheint ihm unbekannt zu sein.

<sup>1)</sup> In Gypswasserfläschchen, welche in meinem Laboratorium dem Lichte eines Nordfensters zugekehrt sind, bildet sich ein Beschlag von *Pleurococcus vuly*. In einem grossen Kolben, angefüllt mit destillirtem Wasser, worin Nährsalze und Ammonsulfat vorkommen, entsteht ein Sediment von *Chlorella infusium*. Zu Boden eines grossen gläsernen Gefässes, worin Leitungswasser sich selbst überlassen bleibt, finde ich *Stichococcus major*. Diese Formen stellen der Hauptsache nach die sogenannte Priestley'sche Materie dar.

<sup>2)</sup> In allen Fällen war die Reaction neutral oder sehr schwach sauer.

gin, oder, umgekehrt, durch Peptonzufügung zum Rohrzucker bei Abwesenheit von Asparagin, festzustellen, welcher von diesen Körpern als Stickstoffquelle fungiren kann. Es stellte sich heraus, dass das Pepton sicher weitaus am leichtesten aufgenommen wird. Ja, alles deutete darauf hin, dass nur Pepton allein in dieser Beziehung wichtig ist und, dass weder Asparagin noch salpetersaures Ammon den Rohrzucker zur vollständigen Nahrung zu ergänzen vermögen. Die immerhin beschränkte Menge neugebildeter Zellen und der Peptongehalt der käuflichen Gelatine machen die Beurtheilung eines solchen Resultates schwierig. Bei einiger Uebung aber lässt sich das Product der relativen Ausgiebigkeit des Wachsthum in Impfstriehen und Colonien, wie jeder Bacteriologe weiss, mit genügender Genauigkeit schätzen, wenn es sich handelt um den Vergleich zweier oder mehrerer Culturen, selbst dann, wenn die Trockensubstanz der neugebildeten lebenden Materie unwägbar wäre.

Füge ich dem Obigen noch hinzu, dass unsere *Chlorella* bei ungehinderter Beleuchtung Kohlensäure zersetzt unter Sauerstoffentbindung und Erzeugung eines Kohlenhydrates, und nur dann ohne Zucker-gegenwart auf Kosten von Pepton und Kohlensäure wachsen kann, so sehen wir, dass diese Art, eben wie *Scenedesmus acutus* in das, auf die Stickstoffernährung gegründete physiologische System der Mikroben, den Pepton-Kohlenstofforganismen zugefügt werden kann<sup>1)</sup>.

Die beschriebene Erfahrung veranlasste mich Versuche mit anderen Nährmedien anzustellen und zwar mit stark zuckerhaltigen Substanzen, wie concentrirtem Malzextract. Wenn dieses mit Nährgelatine erstarrt wird, so entsteht ein ganz vorzüglicher Boden, wo-

<sup>1)</sup> Man vergl. meine Abhandlung »Ueber Lichtnahrung und plastische Nahrung der Lichtbacterien« in »Verlagen en Mededeelingen der Kon. Akad. van Wetenschappen. Amsterdam. Reeks 3, Deel VII, p. 255, 1890«. Dort wird man angegeben finden, dass zahlreiche Lebensformen, Bacterien, Hefe, Schimmel, Protozoen etc., sich nach der Natur derjenigen Körper, denen dieselben den notwendigen Ernährungsstoff entlehnen können, sich wie folgt anordnen lassen. Erste Gruppe. Pepton-Kohlenstoffmikroben — die vollständige Ernährung erfordert neben Pepton irgend eine andere Kohlenstoffquelle, wie z. B. Zucker. Zweite Gruppe. Peptonmikroben — die Ernährung erfordert nur Pepton. Dritte Gruppe. Amidmikroben. Vierte Gruppe. Nitrat- und Ammonmikroben.

rauf Impfstrieche zur üppigen Entwicklung gelangen und viel mehr Zellen erzeugen, wie auf den genannten künstlichen Medien. Ich konnte leicht feststellen, dass diese erhöhte Entwicklung nicht z. B. von den Phosphaten<sup>1)</sup> verursacht wurde, sondern auf die, für das Mikrowachstum überhaupt so vorzüglich geeignete Natur der Malzpeptone beruhen muss.

Das ausgiebige Wachstum und die intensiv schwarzgrüne Farbe verleiht den *Chlorella* culturen auf Malzgelatine etwas ungewöhnlich Auffallendes.

Indem ich wünschte, für gewisse Versuche über die Sauerstoffproduktion durch das Chlorophyll, grössere Massen rein cultivirter *Chlorella* zellen zu besitzen, lag es nahe, durch die Cultur in flüssigen Medien diesen Zweck zu erreichen. Gebraucht man eine geeignete Nährflüssigkeit, so bekommt man bald einen tief grünen, aus *Chlorella* bestehenden Bodensatz, von welchem die überstehende Flüssigkeit ganz klar abgossen werden kann. Vermischt man dieses grüne Sediment mit der noch flüssigen Gelatine, so gelingt es leicht, grüne Gelatineplatten von jeder beliebigen Intensität der Farbe anzufertigen.

Die vermitteltst der Gelatinemethode festgestellten Ernährungsbedingungen machten die Wahl der Nährstoffe für die flüssigen Culturen nicht unsicher. Es wurde in Leitungswasser 2 % Gelatine gelöst und diese Lösung mit etwas Pancreaspulver vermischt, während einer Nacht in einem Thermostaten bei 40° gelassen. Nach 12 Stunden aufgeköcht, entstand dann eine gelblich gefärbte Lösung, welche filtrirt und aufs Neue gekocht wurde. Solche Lösungen sind entweder steril oder nicht steril, je nachdem die bei Kochhitze resistenten Bacteriensporen vollständig getödtet oder theilweise lebendig geblieben sind. Wünscht man auch diese letzteren zu vernichten, so ist ein erneutes Aufkochen der Flüssigkeit, nachdem diese bei 40° verweilt hat, um die Sporen zum Auskeimen zu bringen, nothwendig. Ich muss jedoch bemerken, dass diejenigen Bacterien, deren Sporen Kochhitze ertragen können mit nur vereinzelt, und bei den hier zutreffenden Culturbedingungen überhaupt nicht vorkommenden Aus-

nahmen, nicht nur nicht schädlich, sondern sogar günstig für das Wachstum von *Chlorella* und den übrigen von mir untersuchten Algen sind. Da das Factum in mancherlei Beziehung wichtig ist, vor allem, wenn man überlegt, dass andere Bacterienarten sehr bald die letzten Spuren einer Algenvegetation in, an organischen Körpern so reichen Infusen, wie die hier verwendeten, vollständig vernichten, so will ich darüber noch Folgendes anführen.

Die Arten der bei Kochhitze resistenten Bacterien sind bisher noch niemals einer umfangreichen Bearbeitung unterworfen, sodass es nicht möglich ist, sich bei deren Beschreibung auf genügende Literaturangaben zu stützen. Mir selbst sind im Laufe der Zeit wenigstens zehn wohl erkennbare Formen zu Gesicht bekommen. Nur eine davon, *Bacterium fabaceum* n. s., welche sich in fauligen Bohneninfusen findet, besitzt das Vermögen, die Nährgelatine zu verflüssigen überhaupt nicht, alle übrigen zeigen diese Eigenschaft unter bestimmten Umständen mehr oder weniger deutlich, gewöhnlich in sehr hohem Maasse, wie z. B. die allbekannten Heu- und Kartoffelbacillen und die Bacterien der Darmfäulniss (*Bacillus putrefaciens coli*). Nun sind es besonders die stark verflüssigenden, so ausserordentlich häufig im Erdboden, in Humus, auf Pflanzenblättern und anderswo vorkommenden Formen, welche man in den festen und flüssigen Nährmassen durch Sterilisiren zu tödten hat. Diese Arten sind es aber auch, welche nicht nur in den Culturen niederer Algen gut vertragen werden, sondern welche eben für das Wachstum dieser grünen Organismen förderlich sind. Diese günstige Wirkung macht sich bezüglich der genannten Algen, wie bei anderen Mikroben, z. B. bei den gewöhnlichen Lichtbacterien, leicht bemerklich. Offenbar muss dabei ein tiefer Unterschied in den hauptsächlichsten Ernährungsbedingungen beiderlei Organismengruppen maassgebend sein, und die einzige verständliche Annahme glaube ich in dem nachfolgenden Verhalten suchen zu müssen. Die beiderseitige Wachstumsförderung sah ich nur dort eintreten, wo Eiweisskörper oder Gelatine in der Nahrung gegenwärtig waren und deshalb das Eiweiss zerlegende Enzym der kochfesten Bacterien zur Wirkung kommen konnte. Nun entstehen bei der Einwirkung des Trypsins jedenfalls zwei Peptonarten, möglich, allein nicht

<sup>1)</sup> Alle obengenannten künstlichen Nährmedien enthalten in der Gelatine an sich genügend Phosphate um den Bedürfnissen der *Chlorella* arte zu entsprechen.

sicher, auch noch Amidosäuren. Für die Ernährung der Mikroben kommt den Peptonen in unserem Falle die Hauptbedeutung zu. Wenn nun von diesen beiden Peptonen nur die eine Art den kochfesten Bacterien zu gute kommt, während die andere Art, oder beide zusammen, für die grünen Algen assimilierbar sind, und nach meiner Ansicht trifft dieses wirklich zu, so hat man eine genügende Erklärung für diesen eigenthümlichen Fall eines nur in den Laboratorien herstellbaren symbiotischen Verhältnisses.

Schliesslich will ich noch eine biologische Eigenthümlichkeit unserer, bei der Siedhitze nicht sofort getödteten Bacterien erwähnen, welche, für das Zusammenleben mit anderen Mikroben nicht unwichtig ist. Sie besteht darin, dass diese Bacterien bei den für die Algen günstigen Vegetationstemperaturen, welche 20° C. nicht überschreiten dürfen<sup>1)</sup>, ausserordentlich langsam wachsen, so dass man ihre Gegenwart erst nach Wochen oder Monaten bemerkt und wodurch ein gutes Gleichgewicht mit den ebenfalls so langsam wachsenden Algen hergestellt bleibt.

Fertigt man Gelatineculturen solcher grünen bacterienhaltigen Algenvegetationen an, so ergibt sich die Zahl der darin enthaltenen Bacterien als ausserordentlich gross, und wenn es sich darum handelt, eine durch die Algen grüingefärbte Gelatineplatte zu erhalten, so müssen, um das Verflüssigen vorzubeugen, antiseptische Stoffe, wie Zucker, am besten Maltose, zugefügt werden, welche das Algenwachstum weniger hemmen, wie die Vermehrung und Enzymbildung der Bacterien. Nach einiger Zeit ist der Zucker jedoch verbraucht, und das Verflüssigen kann dann nicht länger zurückgehalten werden. Wie gesagt, ist es aber leicht die Culturflüssigkeit durch wiederholtes Kochen vollständig zu sterilisiren und durch Pepton und Zucker sofort zu einer geeigneten Nährlösung für die Alge zu machen.

Kehren wir aber zu den flüssigen Culturen zurück.

Auch darin ist Zucker, wie schon gesagt, förderlich für das Wachstum, und auch hier erwies sich ein verdünntes Malzextract als vorzüglich. Die Versuche, *Chlorella* in

<sup>1)</sup> Ihre eigenen optimalen Vegetationstemperaturen liegen zwischen 40 und 50° C., ja, bei den Heubaeillen, selbst noch höher.

Nährflüssigkeiten zu cultiviren, welche nur anorganische Nahrung enthielten, z. B. in reinem Leitungswasser, sind, bei genügender Beleuchtung, zwar nicht vollständig misslungen, allein die Zahl der neugebildeten Zellen war so gering, und das Wachstum stand so frühzeitig, selbst bei Ammon- und Phosphatzufügung, stille, dass ich die Zelltheilung nur auf die Gegenwart geringer Spuren peptonartiger Körper in dem Wasser zurückzuführen weiss. Die Erzeugung lebender Zellen aus den organischen Substanzen, welche sich selbst im reinsten Wasser vorfinden, ist wohl das empfindlichste Reactiv um diese Substanzen für unsere Wahrnehmung bemerkbar zu machen<sup>1)</sup>.

Ich habe einige Versuche ausgeführt um *Chlorella* in Meereswasser zu cultiviren. Bei Zufügung einiger Tropfen Malzdekokt, oder von ein wenig durch Bacterien oder durch Pancreas verflüssigte Gelatine, war bemerkbares, allein doch immerhin nur sehr langsames und beschränktes Wachstum zu erreichen. Der Zellinhalt war dabei gänzlich verändert, denn das Chromatophor, welches gewöhnlich die Form einer halben Kugelschale besitzt (a, Fig. 2) erfüllt in den Meereswasserzellen den ganzen körnigen Zellinhalt. In den letzteren war der Zellkern, welcher anders, infolge der sehr abweichenden Structur kaum als solcher erkannt werden würde, sehr deutlich zu sehen und durch das Vorkommen eines Kernkörperchens characterisirt.

Ich will nun zur Beschreibung der Vermehrung der *Chlorellazellen* übergehen.

Diese findet ebenso wie bei *Scenedesmus* nur statt vermittelt freier Zellbildung und ohne Schwärmosporenerzeugung.

Uebrigens ist die Beeinflussung der Gestalt der Zellen und der Structur der Zellhaut bei *Chlorella*, selbst bei der Verwendung der allerverschiedensten Nährböden, ausserordentlich gering und überhaupt nicht zu vergleichen mit dem, was wir bei *Scenedesmus* beobachteten.

Die immer kugeligen *Chlorellazellen* sind sehr verschieden an Grösse, sie wechseln zwischen 3—8  $\mu$ <sup>2)</sup>. In jeder derselben be-

<sup>1)</sup> Vergl. auch Heraeus, Zeitschr. für Hygiene. Bd. 1. S. 226, 1886.

<sup>2)</sup> Zellen, welche weniger wie 5  $\mu$  messen, laufen beim Filtriren ziemlich vollständig durch schwedisches Filtrirpapier. Daher lässt *Chlorella* sich nicht abfiltriren. Hefezellen dagegen, welche im Mittel 8  $\mu$  messen, bleiben beinahe vollständig auf dem Filter zurück.

merkt man, wie oben schon angeführt, einen seitlichen Chlorophyllkörper, welcher der Zellwand als Segment einer Kugelschale eng anliegt und ein Viertel, ja die Hälfte der Zelle ungefärbt lässt. In diesem ungefärbten Theile liegt irgend ein kleines, homogenes Körperchen, welches die gewöhnlichen Kernreactionen zeigt, jedoch gänzlich homogen ist, und so sehr abweicht in Grösse und Lage, dass man sich nur schwer entschliessen kann, darin den wahren Kern zu sehen. Auf Grund der Analogie mit ähnlichen Gebilden bei den niederen Pilzen, z. B. bei den Saccharomyceten, welche ich in schönen, mir zur Verfügung gestellten, gefärbten Präparaten von Professor Moll kennen lernte, fühle ich mich jedoch gezwungen das Körperchen als den Kern zu betrachten. Nicht selten kommt es in Zweifelselbst in Dreizahl vor, allein auch dieses trifft zu für die genannten Pilzzellen. Die Substanz dieser rudimentären Kerne, wovon Moll nähere Mittheilungen in Aussicht gestellt hat, ist Chromatinsubstanz. Das Wachstum derselben ist mit Zweitheilung gepaart.

Der eigentlichen Zelltheilung geht die Theilung des Chromatophors voraus. Dieses fällt, der Norm nach (d, Fig. 2), zuerst in zwei, später in vier, dann in acht und schliesslich in sechzehn gleichwerthige Theilstücke auseinander, ohne dass mit dieser Vermehrung auch ein adäquates Wachstum der ganzen Mutterzelle einherzugehen braucht. Zugleich mit dem Chromatophor hat sich der Kern vermehrt und das farblose Protoplasma scheint sich dem Theilungsprocess ebenfalls anzuschliessen, sodass man schliesslich sechzehn sehr kleine Zellen innerhalb der Zellhaut der Mutterzelle beobachten kann.

Letztere wird zersprengt und lässt die Tochterproducte frei, welche bald anschwellen zu der schliesslich zu erreichenden Grösse.

Abweichungen von diesem regelmässigen Vermehrungsvorgange findet man in dem Ausbleiben der Theilung irgend eines der Producte der Zwei-, Vier- oder Achtheilung, und in dem weit seltener vorkommenden Falle der Vermehrung durch Abschnürung.

Bei sehr günstiger Ernährung z. B. in flüssigen Medien geht die Zelltheilung auf jeder Stufe mit Wachstum zusammen (c,

Fig. 2) wodurch gewöhnlich schon bei der zweiten Theilung die Zellhaut der Mutterzelle abgestreift wird.

Wie gesagt, erzeugt *Chlorella* keine Schwärmsporen. Ich habe deren Culturen nun seit mehr als einem Jahre täglich unter den verschiedenartigsten Bedingungen vor Augen gehabt, und mich durch das sehr anziehende mikroskopische Bild veranlasst gefühlt, jede abweichende Farbe und jede anscheinende Vegetationsveränderung genau zu verfolgen, sodass ich auf Grund einer ungewöhnlich reichen Erfahrung spreche. Es hat sich dabei herausgestellt, dass unsere *Chlorella* eine »gute Art« ist und durchaus nicht als *Protococcus*zustand irgend einer höheren Alge aufgefasst werden kann.

Ich habe alles Dieses etwas ausführlicher betrachtet, weil ich in der Gattung *Chlorella* die niederste Form der Hauptreihe der grünen Algen sehe und die Lebensgeschichte eben solcher Anfangsformen mir besonders wichtig erscheint.

Ueber die verwandtschaftlichen Beziehungen unserer Alge können wir nicht zweifelhaft sein. Legen wir die von G. Klebs gegebene Eintheilung<sup>1)</sup> zu Grunde, so müssen wir *Chlorella* zu den Pleurococcaceen rechnen, welche bei Klebs als die niederste Algengruppe angeführt werden, unter der Diagnose: »Zellen einzeln oder in lockeren Gallertverbänden, sich vermehrend durch succedane Zweitheilung; die Producte der Theilung stets einander gleich, ruhend; jede Zelle ist fähig in den Dauerzustand überzugehen. Beispiele: *Pleurococcus*, *Stichococcus*, *Dactylococcus* (?), *Raphidium*, *Scenedesmus*, *Porphyridium* (?).«

Auch bei Einreihung in das von Wille<sup>2)</sup> adoptirte System ist kein Zweifel daran, dass *Chlorella* zu den Pleurococcaceen, nach seiner Fassung, gebracht werden muss und zwar in die Verwandtschaft von *Eremosphaera* de Bary, wovon *Chlorella* sich aber bedeutend unterscheidet, nämlich: Dadurch, dass das Chromatophor einfach ist, während *Eremosphaera* mehrere Chlorophyllkörper einschliesst; durch die Theilung, welche, wie

<sup>1)</sup> Ueber die Organisation einiger Flagellatengruppen, in Pfeffer's Untersuchungen etc. Bd. I, S. 342, 1885.

<sup>2)</sup> Die natürlichen Pflanzenfamilien. Bd. I. Abth. 2. S. 54. 1890.

wir sahen, zu sechzehn Theilproducten einer Mutterzelle führt, bei *Eremosphaera* zu je zwei; und durch die viel geringere Grösse der erwachsenen Zellen.

(Fortsetzung folgt.)

### Neue Litteratur.

- Botanisches Centralblatt.** 1890. Nr. 39. A. Hansg. Ueber die Verbreitung der reizbaren Staubfäden und Narben, sowie der sich periodisch oder bloß einmal öffnenden und schliessenden Blüten. — Nr. 40. Overton, Beiträge zur Histologie und Physiologie der Characeen. — Nr. 41. Overton, Id. (Schluss.) — K. Mischke, Beobachtungen über das Dickenwachsthum der Coniferen. — Nr. 42. K. Mischke, Id. (Forts.) — Migula, Beiträge zur Kenntniss des *Gonium pectorale*.
- Botanische Jahrbücher.** Herausgegeben v. A. Engler. 12. Bd. 3. und 4. Heft. 1890. F. Buehenau, Monographia Juneacearum (Schluss.) — A. Engler, Beiträge zur Kenntniss der Sapotaceae. — Beiblatt: W. Schwacke. Eine brasilianische *Gunnera* (*Gunnera manicata* Linden). — Id., Ein Ausflug nach der Serra de Caparaó (Staat Minas, Brasilien) nebst dem Versuche einer Vegetationsskizze der dortigen Flora. — P. Taubert, Die Gattung *Otaacanthus* Lindl. und ihr Verhältniss zu *Tetraplacus* Radlk.
- Chemisches Centralblatt.** 1890. Bd. II. Nr. 10. H. Buchner, Ueber pyogene Stoffe in der Bacterienzelle. — A. Osborne, Die Sporenbildung des Milzbrandbacillus auf Nährböden von verschiedenem Gehalt an Nährstoffen. — H. Buehner, Ueber die Ursache der Sporenbildung beim Milzbrandbacillus. — C. J. de Freytag, Ueber die Einwirkung cone. Kochsalzlösungen auf das Leben von Bacterien. — G. Ville, Die Empfindlichkeit der Pflanzen.
- Centralblatt für Bacteriologie und Parasitenkunde.** 1890. VIII. Bd. Nr. 6. Ch. H. Ali-Cohen, Die Chemotaxis als Hilfsmittel der bacteriologischen Forschung. — Th. Janowski, Zur Biologie der Typhusbacillen.
- Gartenflora** 1890. Heft 19. 1. October. L. Wittmaek, *Echinocereus peetinatus* var. *robustus*. — W. Duesberg, Neuere Stauden. 1. *Spiraea astilboides*; 2. *Spiraea palmata alba*; 3. *Agrostemma Walkeri*. — Neue und empfehlenswerthe Pflanzen. — Kleinere Mittheilungen. — Heft 20. 15. October. B. Stein, *Fanda coerulea* Griffith. — H. Seharrer, Noehmals *Abies Eichleri*. — Neue und empfehlenswerthe Pflanzen. — Kleinere Mittheilungen.
- Humboldt.** 1890. 8. Heft. August. U. Dammer, Die Akklimatisation subtropischer Pflanzen. — H. Klebahn, Ueber Hefereincultur und deren Bedeutung für die Brauerei.
- Mittheilungen des Badischen Botanischen Vereins.** 1890. Nr. 81. H. Zahn, Juniausflüge in die Flora von Weissenburg i. E.
- Sitzungsbericht der Gesellschaft naturforschender Freunde zu Berlin.** Nr. 7. 1890. Carl Müller, Das Vorkommen freier Gefässbündel in den Blatt-

stielen kräftiger Umbelliferen sowie Compositen. — Kny, Ueber eine Abnormität in der Abgrenzung der Jahresringe. — Zuelzer, Drei Wurzeln der *Mandragora officinalis*.

**Sitzungsberichte der mathem.-physikal. Classe der k. bayr. Akademie der Wissenschaften.** 1890. XX. Bd. 1. Heft. L. Radlkofer, Ueber die Gliederung der Familie der Sapindaceen.

**Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie und für mikroskopische Technik.** Herausgeg. von W. J. Behrens. VII. Bd. Heft 2. 1890. R. Haug, Einige empfehlenswerthe Tinetionsmethoden. — Suchanek, Technische Notiz betreffend die Verwendung des Anilins in der Mikroskopie sowie einige Bemerkungen zur Paraffineinbettung. — W. Migula, Methode zur Conservirung niederer Organismen in mikroskopischen Präparaten.

### Anzeigen.

Verlag von Paul Parey in Berlin SW.,  
10 Hedemannstrasse.

Soeben erschien:

## Ueber die Pilzsymbiose der Leguminosen. [30]

Von

Dr. B. Frank,

Professor an der Kgl. landwirthschaftl. Hochschule zu Berlin.

Mit 12 Tafeln. Preis 5 Mark.

Zu beziehen durch jede Buchhandlung.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Soeben erschien:

[31]

Dr. Hans Molisch,

Professor der Botanik an der technischen Hochschule in Graz.

## Grundriss einer Histochemie der pflanzlichen Genussmittel.

Mit 15 Abbildungen. Preis: 2 Mark.

Soeben erschienen und steht zu Diensten:

[32]

## Katalog Botanik.

Bibliothek des Prof. Dr. Demeter in  
Klausenburg.

(I. Annales et Acta. Scripta misc. Botanica ocean. 853 Nrn. II. Florae. Phanerogamae 879 Nrn. III. Cryptogamae. Anatomia plantarum 1269 Nrn.

Leipzig, F. A. Brockhaus' Sort. und Antiquarium.  
Ende October.

Nebst einer Beilage von Paul Parey in Berlin, betr.: Wandtafelu für Bacterienkunde von Dr. W. Migula.



# BOTANISCHE ZEITUNG.

Redaction: H. Graf zu Solms-Laubach. J. Wortmann.

Inhalt. Orig.: M. W. Beyerinck, Culturversuche mit Zoochlorellen, Lichenengonidien und anderen niederen Algen. (Forts.) — Litt.: Comptes rendus hebdomadaires des séances de l'académie des sciences. — Neue Literatur. — Anzeiger.

## Culturversuche mit Zoochlorellen, Lichenengonidien und anderen niederen Algen.

Von

M. W. Beyerinck.

Hierzu Tafel VII.

(Fortsetzung).

### IV.

Versuche über die Sauerstoffentwicklung im Lichte durch *Chlorella*, sowie durch andere Algen.

Die erste Anleitung zu meinen Culturversuchen mit Algen war aus dem Wunsche entstanden die Sauerstoffentwicklung durch das Chlorophyll innerhalb einer Gelatineschicht stattfinden zu lassen. Es erschien dadurch möglich, local entbundenen Sauerstoff, z. B. in den verschiedenen Regionen eines auf die Gelatineplatte geworfenen Sonnenspectrums, auf mehrfache Weise eben an der Stelle der Entstehung, sei es vorübergehend oder durch bleibende Effecte, sozusagen fixirt, sichtbar zu machen. Die Resultate haben meine Erwartung nicht getäuscht und ich will hier die Methode kurz besprechen. Mehrere Versuche wurden gemeinsam mit Herrn Dr. H. P. Wysman ausgeführt, dem ich hier meinen Dank ausspreche<sup>1)</sup>.

Als »Reactive« auf freien Sauerstoff verwendete ich erstens das Wachsthum der *Chlorellazellen* selbst, oder das anderer Mikroben; zweitens, durch Natriumhydrosulfit reducirtes Indigblau; drittens, das Aufleuchten von Lichtbakterien, welche zu gleicher

Zeit mit den grünen Organismen der Gelatine untermischt wurden.

Die Versuche mit Indigweiss<sup>1)</sup> wurden folgendermaassen ausgeführt: In einem Reagenröhrchen wurde eine zehnpcentige Gelatinelösung in Grabenwasser mit soviel *Chlorellazellen* vermischt, dass sie intensiv grün gefärbt war. Es wurde dann neutrales indigschwefelsaures Natrium zugesetzt und dieses vermittelt Natriumhydrosulfit, in geringem Uebermaass, reducirt. Bei der Abkühlung entstand eine grünlichgelb gefärbte Säule, welche für die Lichtversuche fertig war. Unter Glockenflaschen, angefüllt entweder mit ammoniakalischer Kupferlösung, oder mit Kaliumbichromat, waren die Resultate im Lichte der Junisonne in Uebereinstimmung mit den bekannten Erfahrungen; das blaue Licht wirkt wie dunkel, selbst noch nach Stunden blieb das Indigweiss reducirt; dagegen war ein Röhrchen im Bichromatlicht schon nach wenigen Minuten tief blau. Die Glockenflaschen mit einer Chlorophylllösung anzufüllen, wurde nicht versucht, weil eine solche Lösung im Lichte sofort zersetzt wird.

Dem directen Sonnenlichte ausgesetzt, bilden sich auf der beleuchteten Seite bald

<sup>1)</sup> Regnard, (Comptes rendus. Dec. 1885) scheint der erste gewesen zu sein, welcher Hydrosulfit und Indigblau für die Untersuchung der Chlorophyllfunction verwendet hat. Pringsheim, (Berichte der Deutsch. bot. Gesellschaft. Bd. 4. S. 87. 1886) hat diese Methode ungerechter Weise verworfen. Offenbar war es ihm unbekannt, dass man das Hydrosulfit in einem geringen Uebermaass zusetzen muss, weil ein Theil des Sauerstoffs bei schwacher Beleuchtung neben Hydrosulfit und Indigweiss bestehen kann, und welcher Sauerstoff, nur nachdem derselbe durch starkes Licht activirt ist, das Indigweiss blau färbt. Das Hydrosulfit muss ausreichen, um auch das durch diesen activen Sauerstoff erzeugte Indigblau zu reduciren.

<sup>1)</sup> Für einige Versuche welche ich hier nicht anführe, verweise ich auf meinen früher (S. 732, Note 2) genannten Vortrag.

Sauerstoffblasen, welche von der Gelatine festgehalten werden. Nach wenigen Tagen werden die Culturen durch das Heranwachsen der vereinzelter Zellen zu Colonien viel dunkler grün wie im Anfang.

Diese Versuche haben eine bestätigende Antwort gegeben auf die Frage, ob lebende grüne Zellen in einem vollständig sauerstofffreien Raume Kohlensäure zu zersetzen vermögen. Claude Bernard zweifelte daran, Pringsheim hat es verneint.

Interessanter war folgendes Ergebniss.

Ein ganzes Röhrchen, mit Ausnahme eines kleinen, unbedeckt gelassenen Theiles der Gelatine, wurde in schwarzes Papier eingewickelt. Ich liess nun in einem dunkeln Zimmer auf den unbedeckten Theil der Röhre ein vermittelst einer Linse convergirend gemachtes Lichtbündel fallen, welches entweder von einer Bunsen'schen Flamme kam, worin Lithiumchlorid glühte, oder von einer solchen Flamme, welche durch Natriumcarbonat gelb gefärbt war.. Die Erwartung, dass das Lithiumlicht im Stande sein müsste, Kohlensäure zu zerlegen und Sauerstoff zu erzeugen, weil dessen Linienspectrum ein sehr intensives Roth von der Brechbarkeit ( $\lambda = 670$ )<sup>1)</sup> enthält, welche genau innerhalb der Grenzen des Chlorophyllabsorptionsbandes zwischen *B* und *C* gelegen ist, während die Natriumlinie,  $\lambda = 589$ , sich in dieser Hinsicht als inactiv ergeben sollte, diese Erwartung hat sich wirklich bestätigt. Im Lithiumlicht färbt sich die isolirte Gelatine nach drei- bis vierständiger Exposition dunkelblau; im Natriumlicht geschah dieses nie, selbst nicht nach achtständiger Beleuchtung.

Besser als Indigweiss ist das Mikrowachsthum als Reactiv auf freien Sauerstoff zu verwenden. Diese Methode erlaubt eine ganze Reihe von Modificationen. Ein gutes und sicheres Verfahren ist das folgende. Ein allseitig geschlossener, durch parallele Glasplatten begrenzter Raum von ein Paar mm Dicke, wird mit der Versuchsgelatine angefüllt und local der Einwirkung irgend einer Lichtquelle ausgesetzt. Als Versuchsplatte lässt sich eine 10-procentige Gelatinelösung ver-

wenden, zu welcher ein wenig Malzextract und soviel *Chlorellazellen* gemischt werden, dass die Zellen zwar überall vorhanden sind, allein doch nicht genug, um die erstarrte Schicht grün zu färben. An den local beleuchteten Stellen beginnt das Wachsthum schon nach ein Paar Tagen infolge der dort stattfindenden Sauerstoffentwicklung, während an den nicht beleuchteten Stellen das Wachsthum vollständig ausbleibt. Es entstehen demzufolge dunkelgrüne Flecke, welche sehr genau den beleuchteten Stellen entsprechen, auf farblosem Grunde. Die Grenzen der Lichtfiguren sind überraschend scharf. Ein feiner Faden quer über das Lichtfeld ausgespannt, erzeugt darin einen deutlich sichtbaren, ungefärbt bleibenden Schatten. Bei der mikroskopischen Untersuchung findet man natürlich an der beleuchteten Stelle Colonien von der Structur der Fig. 2 c, anstatt vereinzelter Zellen.

Um Kohlensäuremangel vorzubeugen, können der Gelatine noch überdies 1 oder 2 % Glucose, sowie eine genügende Anzahl Zellen irgend einer *Mycoderma*art (z. B. *M. sphaeromyces*), welche bei Sauerstoffzutritt aus der Glucose nur Kohlensäure und Wasser erzeugt, zugefügt werden. Da diese Zellen, wie *Chlorella*, bei Abwesenheit von Sauerstoff vollständig inactiv sind und dann auch nicht wachsen, so helfen sie, eben an den Stellen der Sauerstoffbindung, den Wachsthumseffect von *Chlorella* zu erhöhen.

Da die Lichtbakterien momentan auf den entstandenen Sauerstoff reagiren, können die Versuche damit auch bei Gegenwart fremder Bacterien stattfinden. Die Lichtbakterien sind aber alle an das Meerwasser adaptirt, sodass sie sich nur eignen für das Studium der Chlorophyllfunction von Meeresalgen. Als Substrat empfiehlt sich eine sehr verdünnte Nährgelatine oder einfach Meereswasser mit 10 % Gelatine oder  $1\frac{1}{2}$  % Agar, darin werden die Lichtbakterien in grosser Anzahl vertheilt.

Die sehr einfache Versuchsanstellung geschieht folgendermaassen.

Braune Diatomeen werden zu gleicher Zeit mit den Lichtbakterien in der Gelatine fein vertheilt; eine Tange oder eine Ulve wird in geeigneter Weise mit der Lichtbakterien enthaltenden Gelatine übergossen und allseitig eingeschlossen. Das Ganze befindet sich zwischen zwei parallelen Glasplatten, worauf das Spectrum projectirt werden kann.

<sup>1)</sup> Kayser, Lehrbuch der Spectralanalyse. S. 290. 1855. Da die Ausführung sehr einfach ist, habe ich den Versuch dann und wann wiederholt. Ich darf nicht unterlassen hervorzuheben, dass durch unbekannt Ursachen auch im Lithiumlicht die Gelatine bisweilen farblos, also reducirt blieb.

Das beinahe plötzliche Aufleuchten bei dem Beginne der Lichtinsolation an den Stellen der Sauerstoffentbindung ist ebenso überraschend, wie interessant.

## V.

### Versuche mit Zoochlorellen.

Als ich im Frühjahr 1889 *Chlorella vulgaris* kennen lernte, war ich durch die grosse Aehnlichkeit dieser Art mit den Zoochlorellen von *Hydra* und *Stentor* so sehr überzeugt, dass die Alge nur ein freilebender Zustand der Zoochlorellen sein konnte, dass Versuche, die letzteren isolirt zu cultiviren, mir anfangs überflüssig erschienen. Nur der Wunsch, in dieser Beziehung vollständige Sicherheit zu erlangen, veranlasste mich eine Reihe von Wasser- und Gelatineculturen mit dem thierischen Chlorophyll auszuführen. Das Resultat war ein durchaus negatives; die freie Cultur der grünen Körper aus den chlorophyllführenden Thieren ist bisher in keinem Falle gelungen<sup>1)</sup>.

Meine Beobachtungen an *Hydra viridis* und an der grünen Varietät von *Stentor polymorphus* sind am vollständigsten. Ausserdem untersuchte ich mehr beiläufig *Paramaecium Aurelia* und *Spongilla fluviatilis*.

Fangen wir unsere Betrachtungen an mit *Hydra viridis*. Während eines Jahres erhielt ich nach Intervallen von einem bis mehreren Monaten lebendes Untersuchungsmaterial von dem Händler mit mikroskopischen Thieren, Thomas Bolton zu Manchester. In reinem filtrirten Grabenwasser kann man die Thiere im Laboratorium im Becherglase leicht lebendig halten<sup>2)</sup>.

Der *Hydrakörper*, sowie die Arme (*d*, Fig. 5) der Thiere bestehen aus zwei Zellschichten, einem Ektoderm und einem Entoderm. Im Ektoderm bemerkt man in den

Epidermiszellen die Nesselkapseln, wovon eine im ausgeschlehten Zustande, die übrigen noch geschlossen in unserer Figur dargestellt sind. Zwischen den Epidermiszellen liegen die sehr eigenthümlichen, kolbenförmigen oder cylindrischen, massiven Drüsenzellen zerstreut.

Die Entodermzellen (*d*, *e* und *f*, Fig. 5) besitzen amöboide Natur, wenigstens sieht man das Protoplasma derselben in den Präparaten in kräftiger Bewegung. Auf der dem Magenraume des Thieres zugewendeten Seite findet sich gewöhnlich eine sehr geräumige Vacuole (*e*, Fig. 5). Diese Zellen dürften eine amöboide Ernährung der Hydren ermöglichen, das heisst, die directe Aufnahme fester Körper aus den verschlungenen Speisen.

Die Zoochlorellen liegen in ziemlich geringer Anzahl stets und ausschliesslich in den Entodermzellen und zwar auf der dem Ektoderm zugekehrten Seite, also so viel wie möglich nach aussen. Hier bilden dieselben eine dünne, geschlossene Schicht, welche den ganzen Körper des Thieres, so zu sagen gleichmässig einhüllt. Hier finden wir deshalb eine genau bestimmte morphologische Lage der Chlorophyllkörper. In den Ektodermzellen fehlen sie vollständig.

Besonders leicht lässt sich die Vermehrung der Zoochlorellen verfolgen bei der Entwicklung der Thiere aus den Seitenknospen. Dem Augenschein nach zeigt sich dabei, dass die Chlorellen einen integrierenden Bestandtheil der Zellen darstellen und es lässt sich nicht leugnen, dass sie wenigstens bei ihrer Vermehrung in einem gewissen morphologischen Einklang mit der Zelltheilung des Thieres verbleiben. Jede neugebildete Entodermzelle erhält ihre Zoochlorellen auf dieselbe Weise, wie sie ihren Zellkern bekommt, das heisst, durch die Theilung der Chlorellen der Mutterzelle in gleichmässigem Rythmus. Nur vereinzelte Zellen erhalten dabei überhaupt keine Chlorophyllkörner (*f*, Fig. 5, Zelle links unten), und führen anstatt dessen farblose Kugeln, welche wie Oeltropfen aussehen, über deren Natur ich aber unsicher bin. Selbst die weiblichen Fortpflanzungszellen enthalten nach Hamann<sup>1)</sup> normale Zoochlorellen. Das alles sind gewiss wichtige Argumente für die An-

<sup>1)</sup> Nachträgliche Bemerkung. Aus Wasserculturen der Hydrachlorellen, wie solche S. 749 beschrieben sind, erhielt ich in der letzten Zeit in und auf Grabenwassergelatine wohl entwickelte Colonien. Die Möglichkeit des freien Wachstums der Chlorellen ausserhalb des Thieres ist dadurch erwiesen. Auf diese Beobachtung konnte in den folgenden Seiten keine weitere Rücksicht genommen werden.

<sup>2)</sup> Ich habe für solche Zwecke vor einem Südfenster in meinem Laboratorium einen allseitig aus Glasplatten construirten Kasten, mit Glasthüren und mit weissem Papier bedecktem Boden. Meine grünen Organismen wachsen in diesem staubfreien Raume vorzüglich.

<sup>1)</sup> Zeitschrift f. wissenschaftliche Zoologie. Bd. 37. S. 457. 1883.

sicht Ray Lankesters<sup>1)</sup>, nach welcher die grünen Körper keine fremden Algen, sondern Producte des thierischen Protoplasmas selbst sind. Diese Ansicht ist jedoch sicher unrichtig; nur liegt hier ein Fall vor, ähnlich demjenigen der Bacteroiden in den Papiionaceenknochen.

Die Zoochlorellen an sich sind so ausgezeichnet von Brandt beschrieben und abgebildet<sup>2)</sup> dass ich in dieser Beziehung auf seine Abhandlung verweisen kann. Eben daraus wird man die Ueberzeugung erlangen, dass seine Chlorellen meiner oben beschriebenen Alge *Chlorella vulgaris* zum Verwechseln ähnlich sind, sowohl in Bezug auf Bau wie auch in Bezug auf Vermehrung. In letzterer Beziehung erlaube ich mir noch Folgendes zu bemerken.

Die Theilung der Chlorellen wurde zuerst gesehen und gezeichnet durch Balbiani bei *Stentor polymorphus*<sup>3)</sup>. Das Einzige, wodurch dieser Process sich unterscheidet von dem, was wir bei *Chlorella* gesehen, besteht darin, dass weder Balbiani noch Brandt noch ich selbst innerhalb der einzelnen Mutterzelle mehr als 4 Tochterzellen entstehen sahen, während diese Zahl bei *Chlorella*, wie gesagt, bis sechszehn wachsen kann. Uebrigens ist die Viertheilung (a, Fig. 5) der Zoochlorellen ebenfalls ein Vorgang freier Zellbildung, was nur dadurch schwierig zu beobachten ist, dass die Zellwand dieser Zellen ausserordentlich dünn ist, wesshalb dieselbe nach dem Abstreifen überhaupt nicht gesehen werden kann, während dieses bei *Chlorella* so leicht gelingt (d, Fig. 2).

Uebrigens sind mit dem Gesagten die Schicksale der Zoochlorellen innerhalb des Thierkörpers noch nicht vollständig geschildert. Die genaue mikroskopische Prüfung der Amöboidzellen von *Hydra* lehrt uns nämlich noch das Folgende.

Entweder in dem Protoplasma dieser Zellen oder in deren Vacuolen findet man nicht nur grüne Körper von allerlei Grösse bis zur

äussersten Kleinheit, sondern in einzelnen Fällen dunkelrothe Pigmentkörner (c und c, Fig. 5), oder eine bräunliche Detritusmasse. Der Ursprung dieser Theilchen lässt sich ganz sicher auf die Chlorellen zurückführen. In den rothen Pigmentkörnern lässt sich noch die Structur der Algenzellen erkennen (c, Fig. 5) indem sich daran ein gefärbter Theil, welcher dem Chromatophor entspricht und ein ungefärbter Theil vorfindet. Die Pigmentkörper sind zwar sehr klein, allein nicht kleiner, als die kleinsten Zoochlorellen, und auch der Farbe nach sind dieselben durch alle Uebergänge mit den Chlorophyllkörnern verbunden. Ich halte es deshalb für sicher, dass die rothen Körperchen Involutionen der kleineren Chlorellen sind, welche durch einen Verdauungsprocess, seitens des thierischen Protoplasmas ausgeübt, entstehen. Ferner schliesse ich daraus, dass auch die scheinbar normalen grünen Algenzellen einen Kampf mit dem thierischen Protoplasma zu führen haben, wodurch ihre Vitalität herabgesetzt wird. Offenbar ist die Ansicht Kleinenberg's<sup>1)</sup>, nach welcher die Zoochlorellen als gewöhnliche Nahrung verdaut werden können, mit den beschriebenen Beobachtungen in guter Uebereinstimmung.

Und nun meine Versuche mit dem Hydra-chlorophyll.

Zum Zwecke der Cultur der Hydrachlorellen glaubte ich mich zunächst basiren zu können auf meine mit *Chlorella vulgaris* gemachten Erfahrungen. Ich habe deshalb eine Reihe von *Hydra*individuen in flüssiger und auf erstarrter Nährgelatine von allen denjenigen Mischungsverhältnissen, welche bei *Chlorella* mit günstigem Cultur-erfolg untersucht waren, in Anwendung gebracht. Auch wurden die *Hydrakörper* zuvor in sterilisirtem Wasser zerrieben und die Flüssigkeit dann entweder mit der Gelatine gemischt, oder auf eine schon erstarrte Nährgelatineplatte ausgegossen. Alle diese Gelatineculturen, welche mit der nöthigen Ausdauer fortgesetzt sind, gaben ein durchaus negatives Resultat, — nach einiger Zeit sind die Chlorellen immer abgestorben. Zwar hatten einige ein oder zwei Zelltheilungen erfahren, allein aus einer sorgfältigen mikroskopischen Prüfung ergab sich, dass diese

<sup>1)</sup> The Chlorophylleorpuseles of *Hydra*. Nature Vol. 27. p. 87. 1883.

<sup>2)</sup> Ueber die morphologische und physiologische Bedeutung des Chlorophylls bei Thieren.

Erster Artikel: His, Braune und Du Bois Reymond's Archiv, Physiol. Abthl. 1882, Heft I und II, p. 126.

Zweiter Artikel: Mitth. aus der zool. Station zu Neapel. Bd. IV, S. 191, 1883.

<sup>3)</sup> Claude Bernard, Leçons sur les phénomènes de la vie. T. I. p. 213. Pl. p. 230. 1878.

<sup>1)</sup> *Hydra*. Eine anatomisch-entwicklungsgeschichtliche Untersuchung. S. 4. 1872.

Theilung nur dann stattgefunden hatte, wenn noch lebendes thierisches Protoplasma mit den Chlorellen in Contact gewesen war, sobald dieses Protoplasma starb, ging auch das Leben der grünen Körper ein.

Ich versuchte ferner, die Zoochlorellen zu cultiviren in einem Strome Kohlensäure im Lichte. Ich bekleidete dazu das Innere einer beiderseits conisch verlaufenden Glasröhre mit einer dicken Gelatineschicht, auf welcher zerriebene Körper von *Hydra viridis* vertheilt wurden. Nach vielen Tagen sah ich noch keine fortgesetzten Theilungen. Da es schwierig ist Kohlensäure sauerstofffrei zu machen, habe ich auch anaerobe Culturen in hohen Gelatineschichten in Reagensröhren angefertigt, auch dabei aber nichts besonders gesehen; allein ich versäumte diesen Culturen eine reichlich fließende Kohlensäurequelle beizugeben.

Etwas näher bin ich meinem Zwecke, der isolirten Chlorellencultur, gekommen, als ich die Hydren in sterilisirtem Leitungswasser zerrieb und darin, bei Lichtzutritt, verweilen liess. Es zeigte sich dabei wenigstens, dass die Chlorellen durchaus nicht sofort im Wasser absterben, wie es die wahren Chlorophyllkörner der höheren Pflanzen immer zu thun scheinen, sondern dass dieselben nach mehreren Wochen unter diesen Umständen stark anschwellen können. Darauf bezügliche Präparate findet man in *b. Fig. 5* abgebildet. Wie man sieht, ist die schliesslich erreichte Grösse ausserordentlich verschieden und übertrifft alles das, was bei *Chlorella vulgaris* auch unter den verschiedensten Bedingungen beobachtet wurde. Das Ende aller Mühe war aber auch in diesem Falle der Tod. Irgend eine Spur von Theilung wurde in den freien Chlorellen im Wasser nicht beobachtet. Das Leitungswasser wurde durch sterilisirtes Grabenwasser mit und ohne Peptonzufügung ersetzt, doch ohne Erfolg: das peptonfreie Wasser verhielt sich wie Leitungswasser, das peptonführende verdarb bald durch die Bacterien. Es wurden nun, um letzteren Umstand zu beseitigen, Hydren auf peptonführende Nährgelatine in langen Impfstriehen zerrieben und sobald sich deutliche Stellen erkennen liessen, welche bacterienfrei blieben, die darin befindlichen Zoochlorellen mit der Platinnadel in peptonhaltiges Wasser gebracht. Alles war jedoch vergebens, die Zoochlorellen verweigerten bisher aus-

nahmslos sich ausserhalb der Thiere zu vermehren (Vergl. Anmerk. 1 auf S. 745).

Soeben sprach ich über die Bacterien, welche bei solchen Versuchen zum Vorschein treten; darüber noch Folgendes.

Die von mir zu den Culturversuchen zerriebenen Hydren hatte ich zuvor während längerer Zeit mit sterilisirtem Wasser abgewaschen, wozu dieselben zahlreiche Male in einem Uhrglase einem kräftigen Wasserstrahle ausgesetzt und dann zur Erneuerung mit einer Platinöse herausgenommen wurden. Wie lange ich aber auch spritzte und wusch, eine vollständige Entfernung der Bacterien konnte dadurch nicht erreicht werden, in den Impfstriehen sprossen immer zahlreiche Bacteriencolonien hervor, worunter sehr gewöhnlich ein gelbes, ein braunes, ein grünliches, ein rothes und ein sehr interessantes violettes Pigmentbacterium. Alle diese chromogenen Bacterien waren mir aber schon aus dem Wasser an sich bekannt geworden. Bei einer solchen Untersuchung, wie diese, bekommt man erst recht die Ueberzeugung von der allgemeinen Verbreitung der lebenden Keime.

Interessanter wie die Bacterien waren die Algenculturen, welche in mehreren Fällen in den flüssigen Nährmedien schliesslich zur Entwicklung gelangten. In dieser Beziehung bemerkte ich in reinem Wasser einmal eine starke Vermehrung einer Diatomeenart, in zwei anderen Fällen entstanden interessante Reinculturen von *Raphidium polymorphum*. In peptonhaltigem Wasser vermehrten sich bei weiteren Versuchen mit zerriebenen Hydren einmal *Scenedesmus acutus*, ein anderes Mal *Raphidium minutum*.

Vergeblich versuchte ich die Diatomeen durch Gelatine zu isoliren<sup>1)</sup>. Auch *Raphidium polymorphum* konnte ich in oder auf Culturgelatine oder Agar nicht zum Wachsen bringen. Die Cultur dieser Arten gelang nur, wie gesagt, in reinem Wasser und wurde, wenn nicht beeinträchtigt, auch sicher nicht durch die Gegenwart von Pepton gefördert. Ganz anders also, wie bei *Scenedesmus acutus*, womit *Raphidium minutum* wohl auch in Bezug auf die Isolirbarkeit durch die Gelatinemethode übereinstimmen dürfte.

Ist es möglich, so musste ich fragen, dass diese so verschiedenen Algen nur weiterent-

<sup>1)</sup> Auch mit anderen Süß- und Salzwasserdiatomeen sind meine Isolirungsversuche fehlgeschlagen.

wickelte Stadien der Chlorellen sind? Entz hat es bekanntlich behauptet <sup>1)</sup> und Brandt hat diese Ansicht auffallenderweise zu der seinigen gemacht <sup>2)</sup>, obschon er sehr bestimmt erklärt, bei längerer Verfolgung isolirter Zoochlorellen, von Infusorien und *Hydra*, nichts dergleichen gesehen zu haben. Um darüber zu entscheiden, untersuchte ich den in den genannten Algenculturen befindlichen Schleim, welcher aus den *Hydrakörpern* übrig geblieben war, nachher mikroskopisch, und fand darin leicht die absterbenden Chlorellen auf, von Uebergangsstadien derselben zu den genannten Algen jedoch keine Spur. Ferner sah ich in einzelnen Fällen in frischen zerriebenen Hyden einzelne unverkennbare Exemplare von *Raphidium* und *Scenedesmus*, und konnte deren Weiterentwicklung direct in Glaskammern unter dem Mikroskope verfolgen. Diese Algen gehörten offenbar zu der zuletzt verschlungenen Beute und waren gänzlich unabhängig von den Chlorellen. Aehnliche Vorkommnisse müssen Entz offenbar irreführt haben. Auch Bütschli's Beobachtungen an Infusorien stimmen mit den meinigen überein. Er sagt <sup>3)</sup>: »Die unter dem Deckglase gezüchteten Zoochlorellen von *Frontonia leuca* zeigten nicht die geringste Neigung sich zu Algen zu entwickeln (Schewiakoff, Bütschli)«.

Ich will nun meine Wahrnehmungen an *Stentor polymorphus* folgen lassen.

Im Nachwinter und Frühjahr 1890 hatte ich sowohl die farblose wie die grüne Varietät dieses Thieres in jeder beliebigen Anzahl zu meiner Verfügung. Ich fand nämlich, dass der Grabenschlamm, von einem Graben neben meinem Laboratorium, sich bei ruhigem Stehen in eine klare Wasserschicht und einen, von Stentoren förmlich bedeckten Bodensatz trennte. Mit Gläseröhren wurden die Thiere in reines Wasser gebracht und daraus mit Capillarröhrchen abgesondert, in neues Wasser gespritzt und das so lange wiederholt bis sie gänzlich rein waren. In filtrirtem Wasser konnte ich sowohl die farblosen wie die grü-

nen Individuen zur Vermehrung bringen, aber Anfang Juni verschwanden die farblosen Thiere plötzlich sowohl aus dem Graben wie aus meinen Culturgefäßen. Die grünen Exemplare im Graben verminderten sich zwar auch sehr, aber sie blieben noch in genügender Zahl übrig, und ihre Vermehrung dauerte dann auch in meinen Culturgläsern noch unvermindert fort. Im Ganzen war der Unterschied zwischen den grünen und farblosen Formen so gross, dass ich dieselben, ohne das Vorurtheil der specifischen Einheit, sicher für zwei verschiedene Arten würde gehalten haben.

Die Zoochlorellen von *Stentor* liegen in dem subcorticalen Protoplasma. Die Hautschicht, durch welche sie von dem umspülenden Wasser getrennt sind, besitzt nach innen eine sehr deutliche Begrenzung und die Dicke derselben ist nicht unansehnlich. Die Körner stimmen durch die Lage sowie durch die regelmässige, einschichtige Anordnung auffallend mit dem bei *Hydra* beschriebenen Verhalten überein. Von deren Einschliessung in Nahrungsvacuolen ist, wie ich kaum zu betonen brauche, nichts zu bemerken.

Die Culturversuche mit den *Stentorchlorellen* wurden auf genau dieselbe Weise ausgeführt, wie bei *Hydra*, und sie haben dasselbe negative Resultat gegeben, so dass ich dabei nicht länger verweilen will <sup>1)</sup>.

Die farblosen Stentoren gaben mir aber zu einer anderen Versuchsreihe Veranlassung. Würde es möglich sein, dieselben durch Ernährung mit *Chlorella vulgaris* in die grüne Form überzuführen? Ich konnte diese Hoffnung mit einigem Rechte hegen, denn meine *Chlorellaculturen* sind auch den Zoochlorellen von *Stentor* zum Verwechseln ähnlich.

Ich suspendirte deshalb eine genügende Anzahl Chlorellen in das Wasser der Culturgefäße, worin *Stentor* gut gedieh. Bald konnte ich bemerken, dass die Zellen aufgenommen wurden, denn die Thiere veränderten deutlich ihre Farbe und wurden local, allein nicht gleichmässig grün. Bei der mikroskopischen Untersuchung erfuhr ich sofort, dass hier von Zoochlorellenbildung überhaupt nicht die Rede sein konnte, denn die aufgenommenen grünen Zellen lagen in

<sup>1)</sup> Biologisches Centralblatt. Bd. I. S. 646. 1882. Entz erwähnt, er habe bei der Cultur isolirter grüner Körper verschiedener Infusorien, die folgenden einzelligen Algen erhalten: *Palmella*, *Tetraspora*, *Gloeo-cystis*, *Pleurococcus*, *Raphidium*, *Scenedesmus*, *Chlamidomonas* und *Euglena*.

<sup>2)</sup> Zweiter Artikel. I. c. S. 192.

<sup>3)</sup> Bütschli, Protozoen. Abthl. III, S. 1836, 1889.

<sup>1)</sup> Die Körper der grünen Stentoren waren so zart, dass dieselben bei vorsichtigem Niederlegen mit einem Wassertropfen auf reine, erstarrte 10% Gelatine, sobald das Wasser durch die Gelatine absorbiert war, von selbst aufplatzten.

dichten Knäueln angehäuft in grossen Nahrungsvacuolen und von einer Verschiebung nach der subcorticalen Plasmaschicht, oder von irgend einer regelmässigen, derjenigen der echten Zoochlorellen ähnlichen Anordnung war keine Spur zu sehen. In diesen Zustände haben die Thiere lange fortgelebt, sich fortgepflanzt, und schliesslich sind sie als farblose Stentoren verendet.

Wenn bei diesen Versuchen die Zoochlorellenerzeugung gelungen wäre, so hätte ich bei der Beurtheilung des Resultates noch folgenden Umstand scharf ins Auge fassen müssen.

Bei der mikroskopischen Prüfung der Leibsubstanz einer grossen Anzahl frisch eingefangener, farbloser Stentorexemplare sah ich ausnahmslos in jedem Thiere eine gewisse Zahl von Nahrungsvacuolen ( $\alpha$ , Fig. 6a), worin sich in Theilung begriffene *Chlorella*-zellen befanden, welche zwar zu einer anderen Species wie *Chlorella vulgaris* gehören dürften, deren Uebereinstimmung mit den wahren Zoochlorellen von grünen Stentoren jedoch gross war. Ich will diese Körperchen »Pseudochlorellen« nennen und muss betonen, dass, wenn es jemals gelingt, farblose Stentoren in grüne umzuwandeln, die Beobachter darauf achten müssen, ob es diese Pseudochlorellen sind, oder die als Nahrung verwendeten Algen, welche als Muttersubstanz für die Zoochlorellen fungieren.

Die Pseudochlorellen vermehren sich auf die gewöhnliche Weise. Nach der Theilung des seitlichen Chromatophors bemerkt man zunächst eine tetraëdrische Anordnung der durch die dann folgende Theilung erzeugten vier Tochterzellen ( $b$ , Fig. 6). Mehr als vier Theilungsproducte innerhalb einer Mutterzelle sah ich nicht, dagegen war es leicht in einzelnen Vacuolen bis zu 32 und mehr Pseudochlorellen zu zählen.

Ein einzelner Culturversuch auf Gelatine mit den Pseudochlorellen von *Stentor* war erfolglos. Mit reinem Wasser habe ich keine Erfahrungen zu verzeichnen.

Ehe ich die Betrachtung über *Stentor* schliesse, will ich noch bemerken, dass ich in den farblosen Thieren in einzelnen Fällen noch eine andere Alge, nämlich *Raphidium polymorphum* in Ernährungsvacuolen in Theilung angetroffen habe ( $\beta$ , Fig. 6a), sodass beim Zerdrücken der Thiere unter dem Deck-

glase ganze Packete dieser zierlichen Alge in Freiheit gesetzt wurden. Auch diese Art erscheint desshalb als schwer durch das Protoplasma der Thiere angreifbar<sup>1)</sup>.

(Fortsetzung folgt.)

## Litteratur.

Comptes rendus hebdomadaires des séances de l'académie des sciences. Paris 1890. I. Semestre. Tome CX. Janvier, Février, Mars.

p. 88. Sur l'utilisation et les transformations de quelques alealoides dans la graine pendant la germination. Note de M. Edouard Heckel.

Verf. stellt Untersuchungen an über das Schicksal und die Bedeutung der Alkaloide bei der Keimung und zwar einerseits in Bezug auf Strychnin, Brucin und Daturin, andererseits in Bezug auf Caffein.

Die Samen von *Sterculia acuminata*, deren Cotyledonen bis zum Ende des dritten Jahres nach der Keimung am Stengel sitzen bleiben, enthielten im frischen Zustande 2,37, am Schluss des ersten Keimungsjahres 1,072, am Schluss des zweiten 0,7, nach drei Jahren 0,21 % Caffein. Gleichzeitig bildeten sich im Samen neu Chlorophyll und salpetersaures Kali. Aus den Samen von *Strychnos nux vomica* und *Datura stramonium* verschwanden die Alkaloide nach 2—5 Monaten und zwar nur unter dem Einflusse des Embryo, denn ebensolche, aber vom Embryo befreite Samen zeigten in feuchter Erde diese Erscheinung nicht. Die Alkaloide wurden bei der Keimung der letztgenannten Species in leichter assimilirbare Körper übergeführt.

In den Cotyledonen von *Physostigma venenosum* wird dagegen das Eserin auch dann umgesetzt, wenn die Knospe aus dem Samen entfernt war.

In allen Fällen findet man in den jungen Pflanzen weder die Alkaloide noch deren stickstoffhaltige Umwandlungsproducte.

Der Verf. folgert aus seinen Versuchen, dass die Alkaloide Reservestoffe sind.

p. 109. Remarques sur la formation des azotates dans les végétaux; par M. Berthelot.

Die in der vorhergehenden Mittheilung niedergelegten Betrachtungen über das Auftreten von salpe-

<sup>1)</sup> Mit denjenigen zerdrückten Körpertheilen von *Hydra* und *Stentor*, welche sich als frei von Mikroben ergaben, konnte ich keine Trypsin- und Diastasereactionen hervorrufen. Die sogenannte amöboide Ernährung findet, wie es scheint ausnahmslos, ohne Mithilfe von Enzymen statt. Ich würde in dieser Beziehung eine Reihe von Beispielen anführen können.

tersaurem Kali beim Verschwinden von Caffein in den Kolanüssen, die ähnlichen Bemerkungen von Lundstroem über die Bildung des salpetersauren Kalis in den Domatien des Kaffeebaumes und anderer Pflanzen und die Untersuchungen des Verf. und André's über die Salpeterbildung in *Amarantus* beweisen nach der nicht weiter begründeten Ansicht des Verf. die Aehnlichkeit der Lebenserscheinungen der in der Erde einerseits oder in den Pflanzen andererseits lebenden Mikroben, sowohl in Bezug auf die in der Erde wie in den Leguminosen stickstoffbindenden oder in Bezug auf die in der Erde wie in *Amarantus*, *Sterculia* und *Coffea* Nitrate bildenden Mikroben.

p. 156. Sur le développement du Pourridié de la Vigne et des arbres fruitiers. Note de M. Pierre Viala.

Die Pourridié genannte Krankheit des Weinstockes und der Fruchtbäume wird von verschiedenen Pilzen verursacht, unter denen *Dematophora necatrix* der wichtigste ist; dieser Pilz bildet bekanntlich aussen auf den befallenen Organen weisse oder braunflockige Massen oder stellenweise Rhizomorphenstränge oder aber unter der Rinde weisse, filzige Massen, von welchen aus Fäden in das Holz und die Markstrahlen, die Elemente dieser Gewebe zerstörend eindringen.

Von diesem Pilz sind büschelförmige Conidienträger bekannt, die auf den vom Pilz getödteten Theilen des Wirthes gebildet werden. In flüssigen, nicht durchlüfteten Nährmedien beobachtete der Verf. die Bildung von Chlamyosporen auf den charakteristischen birnförmigen, an den Querwänden befindlichen Anschwellungen der Mycelfäden. Ausserdem ist es Verf. auch gelungen Peritheecien zu ziehen auf bereits lange getödteten Reben und Fruchtbäumen und zwar in langsam ausgetrockneten Böden; sie treten erst 6 Monate nach Sistirung der Conidienträgerbildung am Stamme in der Nähe der Bodenoberfläche auf. Sie sind kugelig, dunkelbraun, hart, kurz gestielt, 2 mm im Durchmesser breit, besitzen keine Mündung. Im Innern haben sie eine zweite, aus dicht verfilzten, weissen Fäden gebildete Wand, von der aus Fäden ein das ganze Innere des Peritheciums durchziehendes Gewebe bilden, in dem die wenig zahlreichen Asei radial eingebettet liegen. Letztere sind lang, fadenförmig, 9  $\mu$  breit, mit dünner, hyaliner Wand; sie tragen an ihrer Spitze einen haubenförmigen 28  $\mu$  hohen, 10  $\mu$  breiten Luftraum.

Die Sporen liegen zu acht in jedem Schlauch, besitzen die Form eines gekrümmten, einerseits aufgebauten Schiffchens, homogenen Inhalt, doppelte glatte Membran und schwarze Färbung; sie sind 40  $\mu$  lang und in der Mitte 7  $\mu$  breit. Inneres Gewebe und

Schlauchwände zerfallen endlich, und die Sporen liegen als schwarzes Pulver im geschlossenen Perithecium. Die Keimung der Sporen konnte noch nicht beobachtet werden.

Nach dem Gesagten ist *Dematophora* zu den Tuberaeen zu stellen und ist dann die erste parasitisch lebende, Conidienträger bildende Angehörige dieser Familie. Zur Bildung von Peritheecien und Conidienträgern bedarf der Pilz saprophyte Vegetation auf den von ihm getödteten Pflanzentheilen.

(Fortsetzung folgt.)

## Neue Litteratur.

**Pringsheim's Jahrbücher für wissenschaftliche Botanik.** 1890. 22. Bd. 1. Heft. Ludwig Koch, Zur Entwicklungsgeschichte der Rbinanthaceen. — H. de Vries, Ueber abnormale Entstehung secundärer Gewebe. — A. Fischer, Beiträge zur Physiologie der Holzgewächse.

**The Botanical Gazette.** 1890. August. C. Warnstorf, North American Sphagna. — C. Robertson, Flowers and Insects. — K. E. Golden, Fermentation of Bread.

**Revue générale de Botanique.** 1890. T. II. Nr. 21. Septembre. E. Aubert, Sur la répartition des acides organiques chez les plantes grasses. — M. de Lagerheim, Note sur un nouveau parasite dangereux de la vigne. (*Uredo Vitis* sp. n.). — I. Daniel, Le Tannin dans les Composées. — Hue, Revue des travaux sur la description et la géographie des Liehens, publiés en 1889. — Leclere du Sablon, Revue des travaux d'anatomie végétale, parus en 1889 et au commencement de 1890. — Nr. 22. 15. Octobre. II. Jumelle, Influence des Anesthésiques sur la transpiration des plantes. — M. Brandza, Recherches anatomiques sur les Hybrides. — G. Bonnier, Observations sur les Nymphéacées et les Papavéracées de la Flore de France. — Leclere du Sablon, Revue des travaux d'anatomie végétale, parus en 1889 et au commencement de 1890.

## Anzeige.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Soeben erschien:

[33]

**Dr. Hans Molisch,**

Professor der Botanik an der technischen Hochschule in Graz.

## Grundriss einer Histochemie der pflanzlichen Genussmittel.

Mit 15 Abbildungen. Preis: 2 Mark.

Nebst einer Beilage von Julius Springer in Berlin, betr.: Lehrbuch der Anatomie und Physiologie der Pflanzen von Dr. Robert Hartig.



# BOTANISCHE ZEITUNG.

Redaction: H. Graf zu Solms-Laubach. J. Wortmann.

Inhalt. Orig.: M. W. Beyerinck, Culturversuche mit Zoochlorellen, Lichenengonidien und anderen niederen Algen. (Forts.) — Litt.: Comptes rendus hebdomadaires des séances de l'académie des sciences. (Forts.) — Personalnachricht. — Neue Litteratur. — Anzeige.

## Culturversuche mit Zoochlorellen, Lichenengonidien und anderen niederen Algen.

Von

M. W. Beyerinck.

Hierzu Tafel VII.

(Fortsetzung).

Mit den sehr kleinen Zoochlorellen von *Spongilla fluviatilis* habe ich dreimal Culturversuche angestellt. Mein Material hatte ich theilweise selbst gesammelt an einem Fundorte bei Oosterbeek, andertheils von Bolton aus Manchester bezogen. Schöne Pigmentbakterien aber keine Chlorellen sind die Frucht meiner Mühe gewesen. Da die Gemmen von *Spongilla* sich als frei von Zoochlorellen ergaben, so zweifle ich nicht, dass wenigstens in diesem Falle, eine directe Infection während des individuellen Lebens der Thiere stattfinden muss. Die sehr unregelmässige Anordnung und das öftere Fehlen der Chlorellen in den *Spongilla*-zellen führt zu der Vermuthung, dass die Symbiose hier auf einer niederen Stufe der Vollkommenheit verkehrt, wie in den vorhergehenden Fällen, und, dass bei den in das gefärbte Entwicklungsstadium übergehenden Urahnen von *Hydra viridis* und *Stentor polymorphus* var. *viridis*, einmal eine Anordnung dagewesen sein dürfte, welche sich mit dem gegenwärtigen Verhalten von *Spongilla* vergleichen lässt.

Nach meiner Ansicht hat Brandt vollkommen Recht, wenn er die Chlorellen von *Spongilla* zu einer gesonderten Art bringt.

Es dürfte nicht überflüssig sein, bevor wir weitergehen, an dieser Stelle einen Rückblick zu werfen auf die durch die Culturversuche festgestellten Eigenschaften unserer

Gattung *Chlorella*, sowie auf die dazu gebrachten Arten.

*Chlorella*: Einzellige grüne, zu den Pleurococcaceen gehörige Algen, mit kugelförmigen, ellipsoidischen oder abgeplatteten Zellen von 1—6  $\mu$  Mittellinie, gewöhnlich mit nur einem Chromatophor von der Gestalt einer Kugelsegmentschale; Pyrenoid un- deutlich oder fehlend. Im Lichte entsteht unter Sauerstoffentwicklung aus Kohlensäure Paramylum, welches sich mit Jod braun färbt. Zellkern meist einfach, bisweilen in Zweizahl, von wechselnder Grösse, nur aus Chromatin bestehend. Die Vermehrung beruht auf freier Zellbildung durch successive Zweitheilung. Die Theilproducte kommen frei durch Platzen der Wand der Mutterzelle; sie können sehr verschieden sein in Grösse ( $\frac{1}{2}$  bis 4  $\mu$ ). Schwärmsporen fehlen vollständig. In süssem und salzigem Wasser, wahrscheinlich auch auf dem Lande.

*Chlorella vulgaris*. Zellen rund (2 bis 6  $\mu$ ), frei lebend, niemals zu Familien verbunden. Reincultur auf Gelatine und in Pepton-haltigem Wasser gelungen. Wohl identisch mit *Chlorococcum protogenitum* Rabenhorst.

*Ch. infusium*. Zellen kleiner (1 bis 4  $\mu$ ), oft abgeplattet, selbst kurzcyllindrisch. Lebt wie vorgehende Art. Isolirungsversuche nicht gelungen. Wohl identisch mit *Chlorococcum infusium* Rabenhorst.

*Ch. (Zoochlorella) parasitica* Brandt. Chlorophyll von *Spongilla fluviatilis*; vielleicht identisch mit *Ch. infusium* und wahrscheinlich während des individuellen Lebens durch *Spongilla* von aussen aufgenommen. Isolirungsversuche nicht gelungen.

*Ch. (Zoochlorella) conductrix* Brandt. Chlorophyll von *Hydra*, *Stentor*, *Paramaecium* und wahrscheinlich von vielen anderen grünen Thieren. Wohl entstanden aus *Ch. vulgaris*, von entfernten Urahren der genannten Thiere aufgenommen. Isolirungsversuche nicht gelungen. (Vergl. Bemerkung 1 S. 745.)

Die bisher misslungenen Culturversuche mit den Zoochlorellen veranlassen mich, noch kurz die Gründe anzuführen, weshalb ich doch fest überzeuge bin, dass hier ein Fall von Symbiose vorliegt, welcher sich nicht mit dem Vorkommen des Chlorophylls bei den Pflanzen und Euglenen vergleichen lässt, deren Chromatophoren sich allmählich als gesonderte Organe des Protoplasma individualisirt haben, ähnlich wie es mit dem Zellkern geschehen sein muss. Bei dieser sowie bei verwandten Fragen ist die comparative Methode entscheidend. Diese lehrt uns, dass nicht Chlorellen allein, sondern auch andere Algen symbiotisch mit thierischen Geweben zusammenleben können, und dass dabei in manchen Fällen, bezüglich des Einwanderns der Algen aus der Umgebung überhaupt kein Zweifel möglich ist. So steht es z. B. für jeden Zoologen fest, dass die Zooxantellen<sup>1)</sup> fremde Eindringlinge sind. Für die höher organisirten Algen, z. B. für den *Chaetoceros*, welchen Faminzin als Symbiont zu *Tintinnus inquilinus* beschreibt, sowie für *Spongoecia vaucheriaeformis*, welche mit *Reniera fibulata* zusammenlebt<sup>2)</sup>, muss dieses als selbstredend zugegeben werden.

Selbst in diesen klaren Fällen erscheint es durchaus nicht sicher, dass es gelingen würde, solche Algen ausserhalb der Thiere im freien Zustande zu cultiviren.

In der angeführten Abhandlung von Weber und Weber-van Bosse findet sich noch ein anderes, sehr überzeugendes Argument für die Fremdnatur, selbst der echten, grünen Zoochlorellen. Ich meine den merkwürdigen

Fund von *Noctiluca miliaris*, im Bai von Bima, auf der Insel Sumbawa, dunkelgrün gefärbt durch wahre Chlorellen<sup>1)</sup>. Dass diese allbekanntesten Lichtinfusorien ihre Chlorellen nur von aussen haben erhalten können, auch das wird wohl für Jedermann einleuchtend sein. Die Reisenden glaubten zuerst bläschenförmige Algen vor sich zu sehen, überzeugten sich aber bald von dem eigentlichen Sachverhalt. Sie bemerken, dass bei einer genauen Prüfung keine verdauten Zellen gefunden wurden und dass die Chlorellen im Protoplasma und nicht in den Vacuolen der Thiere liegen. Ich verdanke ihrer Güte ein Muster auf Spiritus von dieser ausserordentlichen Combination.

Auf die Behauptung, man könne mit demselben Rechte, womit der parasitäre Ursprung der Chlorellen vertheidigt wird, annehmen, die echten Chlorophyllkörper der Pflanzen seien in die Urahren eingewanderte Algen, auf diese Behauptung muss ich entgegenen, dass die Chlorophyllkörner der höheren Pflanzen homolog sind mit den Chromatophoren der Chlorellen und nicht mit den Chlorellenzellen an sich<sup>2)</sup>, sodass, consequenter Weise, dann auch behauptet werden müsste, dass die Chromatophoren in die Zoochlorellen von aussen eingewandert sind. Das wird jedoch bei dem heutigen Stande unserer Kenntniss wohl niemand glauben. Das Beste nämlich, was wir gegenwärtig von den Chromatophoren wissen, rührt von Schmitz her<sup>3)</sup>, der zum Schlusse gekommen ist, dass diese Zellenorgane, phylogenetisch, als Theilproducte von Zellkernen entstanden sein dürften<sup>4)</sup>, und damit derweise übereinstimmen, dass die Pyrenoide homolog sind mit der Chromatinsubstanz oder den Nucléolen. Eine Parallelisirung der Chromatophoren mit vollständigen, kernhaltigen Zellen betrachte ich demzufolge als nicht durchführbar.

In Bezug auf das Misslingen der Zoochlorellencultur ausserhalb der thierischen Zellen ist es nicht schwierig Analogieen aufzu-

<sup>1)</sup> Symbiose du *Noctiluca miliaris* avec une Algue unicellulaire verte. l. c. p. 69.

<sup>2)</sup> Nur im Hypocotyl der Keimpflanzen von rothem Klee fand ich Chlorophyllkörner, welche nur theilweise gefärbt waren, doch konnte ich nicht daran zweifeln, dass die beiden Theile zusammen das Chromatophor vergegenwärtigen.

<sup>3)</sup> Die Chromatophoren der Algen. Bonn 1882.

<sup>4)</sup> Mir würde es richtiger scheinen, zu sagen: Die Chromatophoren sind umgewandelte Zellkerne vielkerniger Zellen.

<sup>1)</sup> Vergl. Brandt, Zweiter Artikel, l. c., sowie Faminzin, Beitrag zur Symbiose von Algen und Thieren. Mém. de l'Acad. d. sc. de St. Pétersbourg. T. 36. Nr. 1. p. 1. 1889.

<sup>2)</sup> Max Weber und A. Weber-van Bosse, Quelques nouveaux cas de symbiose, in: Zool. Ergebnisse einer Reise nach Ostindien. Heft I. pg. 39. 1890. Hier findet man auch die übrigen auf Spongien bezüglichen Fälle zusammengestellt.

weisen. So habe ich gezeigt, dass die Bacteroiden der Papilionaceenknöllchen, welche sich nicht cultiviren lassen, doch sicher aus den in die Wurzelzellen eingewanderten Stäbchen von *Bacillus radicicola* entstehen, eine Bacterie, welche leicht in künstlichen Nährmassen fortzuzüchten ist.

## VI.

### *Chlorosphaera limicola.*

Bei Gelegenheit eines Culturversuches mit dem zerriebenen Körper einer *Hydra viridis*, welcher in einer 10-procentigen, mit 0,2 % Cohn'schen Nährsalzen<sup>1)</sup> gemischten, nachher erstarrten Gelatinelösung in Leitungswasser ausgeführt wurde, und wobei nur sehr wenig Bacterien zur Entwicklung gelangt waren, fand ich nach drei Wochen eine dunkelgrün gefärbte Colonie einer interessanten Alge<sup>2)</sup>. Natürlich glaubte ich anfangs, ich hätte die weiter entwickelten Zoochlorellen vor Augen, allein weitere Erfahrungen widerlegten diese Ansicht. Ich lernte die nämliche Form bald als steten Bewohner des Schlammes stark verdorbener Gewässer kennen und bemerkte, dass dieselbe in hohem Maasse geeignet ist, anaerobiotisch zu leben, wodurch ich leicht imstande war, neue Reinculturen derselben zu erhalten.

Ich verfuhr dabei folgendermaassen.

Es wurde zu Grabenschlamm in tiefen Reagentienröhren etwas Indigoblau zugesetzt. Sobald dieses in der Tiefe durch die reduzierenden Bacterien vollständig entfärbt war<sup>3)</sup>, wurden eben von dorthier Gelatineculturen angefertigt. Bald kamen die grünen Colonien zum Vorschein.

Ueberhaupt ist diese *Chlorosphaera* die am leichtesten cultivirbare der von mir gezüchteten Algen. Die Lebensbedingungen der-

<sup>1)</sup> Die Cohn'sche Mischung ist wegen der sauren Reaction, besonders den Gelatine schmelzenden Bacterien ungünstig.

<sup>2)</sup> Beschreibungen davon habe ich nicht auffinden können, allein ich zweifle nicht, dass viele Mikroskopiker die Art beobachtet haben müssen.

<sup>3)</sup> *Chlorosphaera* selbst verursacht keine Reduction, ebensowenig wie die übrigen von mir untersuchten Algen. Mir ist diese Function nur bei gewissen Bacterien bekannt geworden. Auch bei der Hefe fehlt sie vollständig. Für die Beurtheilung von Oxydationswirkungen im Substrat unter Einfluss von Mikroben, giebt es nicht solche empfindliche Reactive, wie für die Reduction. Allein, ich glaube doch sicher behaupten zu können, dass auch keine meiner Algen das Substrat oxydirt.

selben stimmen übrigens nahe überein, mit dem, was wir bei *Scenedesmus acutus* und *Chlorella vulgaris* gesehen haben. Das Bedürfniss an organischen Stoffen ist hier dasselbe, wie dort; im Lichte und bei Kohlen säurezutritt ist Pepton allein (mit den nöthigen Phosphaten) zureichende Nahrung, — im Dunkeln ist Pepton mit Zucker ausgezeichnet. Auf geeigneter Nährgelatine wächst die Art ebenso reichlich, als ob sie eine gewöhnliche Bacterie wäre. Nur nach Monaten bemerkt man, dass die Colonien in die Gelatine etwas hineinsinken, infolge einer sehr schwachen tryptischen Wirkung, welche an Intensität nicht zu vergleichen ist mit derjenigen von *Scenedesmus acutus*. Diastase erzeugt unsere Art nicht; *Chlorella*, *Scenedesmus* und *Cystococcus* thun dieses ebensowenig. Gute Nährmassen sind z. B. die folgenden: 1. Leitungswasser mit 8 % Gelatine, 1/2 % Pepton und 1 % Rohrzucker (oder anstatt Rohrzucker Glucose, Laevulose oder Maltose). 2. Malzextract erstarrt mit 8 % Gelatine.

Zur Anfertigung durch *Chlorosphaera* intensiv grün gefärbter Flüssigkeiten verwendete ich auch hier eine 3-procentige Gelatinelösung, welche mit Pankreaspulver oder durch Bacterien peptonisirt und dann sterilisirt wurde. Fügte ich dann noch überdies einige Tropfen Malzextract hinzu, so wurde das Wachsthum überraschend gefördert.

In diesem Falle konnte ich nicht lange unsicher bleiben in Bezug auf das Bedürfniss an organischen Stoffen, denn in *Chlorosphaera* haben wir eine grüne Algengattung vor uns, welche eine saprophytische Lebensweise führen kann, wie z. B. *Ch. Alismatis* Klebs<sup>1)</sup>, und deren nächste Verwandten grüne Parasiten lebender Pflanzen sind, wie *Chlorochytrium*, oder ebenfalls als Saprophyten in abgestorbenen Pflanzentheilen vorkommen, wie *Endosphaera*, *Phyllobium*, *Scotinosphaera*<sup>2)</sup>. Dass diese Algen an ihren Standorten Stoffe zur Ernährung vorfinden, von ähulicher Zusammensetzung wie die Mischungsbestandtheile der Peptone, und selbst Zuckerarten, ist sicher, denn die zahl-

<sup>1)</sup> Wille trennt die Chlorosphaeraceen als gesonderte Familie von seinen Protococcaceen; das scheint mir jedoch ungenügend begründet. In der Anreihung bei Klebs (Pfeffer's Untersuchungen, Bd. I. S. 343, 1881), welcher die Protococcaceen in Familien auflöst, muss, nach meiner Ansicht, die von Wille aufgestellte Familie der Chlorosphaeraceen zu den Endosphaeraceen gebracht werden.

<sup>2)</sup> Klebs, Botan. Ztg. 1884. p. 249.

losen trypsinerzeugenden Wasserbakterien zersetzen unzweifelhaft die proteinartigen Körper absterbender Pflanzenzellen auf eine ähnliche Weise wie Paucraspulver Gelatine, und Eiweiss, und, in nicht allzusehr verdorbenem Wasser finden sich immerhin diastatische Bacterien, welche aus dem Amylum der todtten Pflanzentheile etwas Zucker zu bilden vermögen. Auch die Symbiose von *Anabaena* mit Cycadeenwurzeln und Gunnerarhizomen, sowie diejenige von *Nostoc* mit *Blasia* und *Azolla* dürfte auf das Bedürfniss an organischen Stoffen seitens dieser Algen beruhen.

Die interessanteste Eigenschaft unserer *Chlorosphaera* besteht darin, dass sie sowohl auf der Nährgelatine, wie in Culturflüssigkeiten sehr leicht Schwärmosporen erzeugt (*b, c, d*, Fig. 3). Ehe wir diese besprechen, muss ein Wort über die ruhenden Zustände vorausgeschickt werden. In der ruhenden Zelle (Grösse 6 bis 12  $\mu$ ) findet sich ein gekörneter, gleichmässig grün gefärbter Protoplast, dessen Chromatophor als geschlossene Blasen der Zellwand überall anliegt. Stets erblickt man im Chromatophor ein deutliches Pyrenoid<sup>1)</sup>, woran ich jedoch keine Amylumhülle bemerkte, obschon die Wand des Pyrenoids sehr scharf contourirt ist. Viel schwieriger ist der Zellkern zu finden, welcher nahezu in der Mitte der Zelle liegt. Die Vermehrung beruht immer auf freier Zellbildung, welche innerhalb der zuletzt abgeworfenen Wand der Mutterzelle stattfindet. Die Producte der Theilung runden sich bald ab; im Ganzen kann deren Zahl innerhalb einer Zelle zu 32 bis 64 heranstiegen. Bei sehr kräftiger Ernährung, z. B. auf concentrirter Malzextractgelatine, sind die neugebildeten Zellen unbeweglich (*f*, Fig. 3); sie erzeugen dann bei dem Weiterwachsen eine dicke, farblose Zellwand und infolge ihrer Anordnung eine Art Pseudoparenchym von schwarzgrüner Farbe. In reichhaltigen Nährflüssigkeiten entstehen leicht dunkelgrüne Membranen, welche die

<sup>1)</sup> Reinsch, (Beobachtungen über entophytische und entozoische Parasiten, Bot. Ztg. 1879, p. 24) bildet in seiner Fig. 3a so deutlich ein Pyrenoid ab in den grünen Algenzellen, welche er in den Tüpfelzellen von Sphagneen-Blättern aufgefunden hat, dass ich nicht daran zweifle, er habe eine *Chlorosphaera* vor sich gehabt. Er selbst glaubt, der Organismus könne *Chlorococcum infusionum* sein, er erwähnt dieses aber mit Zweifel.

Glaswand der Gefässe an der Lichtseite bekleiden und einige Uebereinstimmung mit *Ulva* zeigen. Ueberraschend verschieden ist die Grösse, welche man bei den ruhenden Zellen beobachtet, und das zwar auf einer und derselben Nährgelatine. Fände man Algen von so wechselnden Dimensionen im Freien, so würde man Anstand nehmen dieselben zu einer einzigen Art zu bringen. Man vergl. z. B. die normalen in *a*, Fig. 3 dargestellten grossen Zellen mit der kleinen ruhenden Zelle *e*. Selbst in den kleinsten Zellen lässt sich leicht das Pyrenoid erkennen.

Wenn die *Chlorosphaera* reichlich mit zuckerhaltigen Stoffen ernährt wird, so findet man im Chlorophyll Stärkekörner (*g*, Fig. 2), welche sich mit Jod blau färben<sup>1)</sup>. Eine bestimmte Lagerung dieser Körner mit Bezug auf das Pyrenoid sah ich nicht.

Betrachten wir jetzt die Schwärmosporen.

Die Entstehungsweise geschieht genau so, wie bei den ruhenden Zellen durch freie Zellbildung infolge successiver Zweitheilung. Jede Spore erhält ein Chromatophor, worin das Pyrenoid schon deutlich sichtbar ist. Am farblosen Ende befinden sich zwei Schwärmfäden, welche nur bei Anwendung homogener Immersion (ich benutzte  $\frac{1}{12}$  Zeiss) direct sichtbar sind. Die Sporen sind sehr klein und von ungleicher Grösse. Die kleineren (*d*, Fig. 3) messen 2 bei 4  $\mu$ , die grösseren (*c*, Fig. 3) 3 bei 5  $\mu$ . Bisweilen sah ich kleine Schwärmer, welche mit ihren Schnabelenden verwachsen waren, übrigens konnte ich keine Copulation beobachten. Ob eine solche im Freien existirt, weiss ich nicht. Meine eigenen, nun schon überjährigen Culturen, veranlassen mich nicht daran zu glauben. In allen früher genannten Nährmassen, nur mit Ausnahme der concentrirteren, Malzextract haltigen, lassen sich immerfort Schwärmer in allen möglichen Entwicklungsstadien antreffen. Jede Spur der grünen Materie, wie dieselbe auf Nährgelatine entsteht, in reines Wasser gebracht, sendet nach allen Seiten zahlreiche Schwärmer hinaus, welche ihrerseits für neue Culturen verwendet werden können. Die Schwärmer finden sich also fertig ausgebildet und sehr reichlich auf der ziemlich trockenen

<sup>1)</sup> Echtes Amylum, welches sich mit Jod blau färbt ist bei den niederen Algen und Thieren äusserst selten. Zu den letzteren gehört das farblose *Polytoma wella*. Unter den Bacterien giebt es dagegen manche Arten, welche Granulose einschliessen.

Oberfläche der Gelatine, niemals aber in Copulation. Bei plasimolytischen Versuchen mit denselben sah ich zuerst die Beweglichkeit aufhören, und dann nachher erst die Formänderung eintreten; eine Wand konnte ich nicht erkennen. Die Leichtigkeit, womit man diese Schwärmer in grosser Anzahl und vollkommen rein erhalten kann, lassen dieselben als ein geeignetes Material erscheinen zur Ausführung mehrerer Versuche bezüglich des Einflusses der Impodrabilien, sowie von gelösten Körpern auf die Beweglichkeit grüner Organismen.

Da *Chlorosphaera* durch Structur und Lebensart vielfach an *Chlamidomonas pulvisculus* erinnert, und da letztere Art zwei contractile Vacuolen und einen Augenfleck besitzt, suchte ich diese Organe auch bei *Chlorosphaera*, allein vergebens. Die Uebereinstimmung dürfte desshalb wohl nur eine äusserliche sein, was auch damit stimmt, dass *Chlamidomonas* im erwachsenen Zustand durch zwei Schwärmer beweglich ist, was bei *Chlorosphaera*, wie wir gesehen, nicht der Fall ist. *Chlamidomonas* konnte auf Gelatine nicht cultivirt werden.

## VII.

Die Gonidien von *Physcia parietina*.

Da Bornet und Schwendener die Gonidien von *Physcia* mit *Cystococcus humicola* Nägeli identificirt haben, werde ich diesem Beispiele folgen, obschon ich betonen muss, dass Nägeli, nach meiner Ansicht, den letzteren Namen einer ganz anderen Algenart, welche zu *Chlorosphaera* oder *Endosphaera* gehört, gegeben hat<sup>1)</sup>, was schon daraus erhellt, dass das Pyrenoid in den *Physciagonidien* nicht zu sehen ist, während dasselbe in Nägeli's Abbildungen von *Cystococcus* überall deutlich hervortritt<sup>2)</sup>. Uebrigens dürften in seiner Figur wenigstens zwei Algenarten zur Darstellung gelangt sein, denn seine Fig. 2, Taf. III, obere Hälfte, ist wohl identisch mit *Chlorocella vulgaris*.

Das Isoliren der *Physciagonidien* hat mir anfangs viel Mühe gekostet, nämlich so lange ich noch nicht wusste, dass auch diese Alge organische Körper zu ihrer Ernährung verlangt. Ich gebrauchte desshalb im Anfange nur eine magere Ulmenrindegelatine, weil ich glaubte, nur eine geeignete Mischung

der Nährsalze nöthig zu haben, und bekam dabei erst nach Monaten sehr dürrtige Culturen. Als ich aber später dafür Malzextract in Anwendung brachte, waren die Schwierigkeiten bald überwunden, und seitdem besitze ich hübsche Vegetationen in verschiedenen Nährmassen.

Da ich in Bezug auf die als wirksam erkannten organischen Körper zu identischen Resultaten, wie bei *Chlorocella*, *Chlorosphaera* und *Scenedesmus* gekommen bin, das heisst, Peptone mit Zucker als die Hauptnährstoffe kennen lernte, so verweise ich für die Anfertigung der geeigneten Nährmischungen auf das bei jenen Arten Gesagte. Eine Schlussfolgerung, welche sich aus dem angeführten Sachverhalt ergibt, ist diese: *Cystococcus* erhält von dem farblosen Wirthe Peptone und giebt diesem dafür Zucker zurück<sup>1)</sup>. Die Lichenen müssen desshalb als Doppelparasiten betrachtet werden und sie können nicht einfach mit farblosen Schmarotzern auf grünen Pflanzen verglichen werden. Die Ernährungsoeconomic der Lichenen muss sich also wohl folgendermaassen verhalten: Der Ascomycet ist ein Ammon-Zuckerpilz (dass gewisse Ascomyceten ihren Stickstoff Ammonsalzen entlehnen können, weiss ich aus anderen Erfahrungen). Zucker und Ammonsalzerzeugen neben dem Pilzprotoplasma, und innerhalb des letzteren Peptone, welche nach aussen diffundiren und zusammen mit Kohlensäure das Wachstum und die Zuckerbildung von *Cystococcus humicola* ermöglichen.

Ich will noch betonen, dass sich diese Ansicht erst ganz allmählich bei mir zu einer Ueberzeugung ausgebildet hat und die Frucht ist zahlreicher vergeblicher Versuche, um meine Gonidienculturen mit Ammon- oder Nitratstickstoff (und Zucker) zu ernähren. Erst als ich diese Versuche aufgab und Peptone als Stickstoffquelle darbot, konnte ein merkliches Wachstum erreicht werden. Ich glaube, dass diese meine Ansicht nicht sofort von

<sup>1)</sup> In dieser Gegend ist *Cystococcus*, ansserhalb der Lichenen, durchaus nicht so allgemein zu finden, wie man auf Grund der Litteratur würde erwarten können. So besteht der grüne Beschlag auf Ulmenrinde, an Brettern und ähnlichen Stellen, so weit ich gesehen habe, beinahe ausschliesslich aus *Pleurococcus vulgaris*. Viel seltener fand ich darin ein *Stichococcus* und Schwärmer von mir unbekanntem Arten. Ich betrachte es als sicher, dass frei lebende *Cystococcus*zellen auch an die Gegenwart von Peptonen gebunden sind.

<sup>2)</sup> Zu vergleichen siehe Anmerkung 4 S. 782.

jedem Botaniker wird getheilt werden, weil unsere bisherige Auffassung über die Ernährung der grünen Pflanzen damit nicht in Uebereinstimmung ist. Auch giebt es viele Arten, selbst aus den Verwandtschaftskreisen der genannten, organischer Körper bedürftigen Algen, wie z. B. *Raphidium polymorphum*, die Diatomeen etc., welche, wie ich früher schon betonte, sich ganz sicher nach dem herkömmlichen Schema verhalten. Ich hoffe desshalb, dass meine Versuche wiederholt werden sollen: das Einzige, was dafür nothwendig ist, ist bacteriologische Erfahrung und Geduld. Man muss sich bei dergleichen lange andauernden Culturen, allererst von den Bacterien, welche selbst im Innern der Thalluslappen in ungeheuren Zahlen gegenwärtig sein können<sup>1)</sup>, unabhängig zu machen wissen. Ich bin dabei folgendermaassen verfahren.

Mitten im Winter wurden *Physciar*asen von Ulmenrinde genommen und davon feine Thallusschnitte angefertigt. Diese wurden sehr genau mikroskopisch untersucht, denn es kam mir darauf an, sicher zu wissen, dass keine fremden Algen, ausser den Gonidien, gegenwärtig waren, und *Hydra viridis* hatte mich gelehrt, wie schwierig es ist, einzelne fremde Algenzellen unter zahlreichen identischen einer anderen, ähnlichen Art, zu erkennen.

Die richtigen Schnitte wurden sorgfältig mit sterilisirtem Wasser gereinigt, um die anhängenden Bacterien soviel wie möglich zu entfernen, und dann mit einer Nadel auf eine dicke Gelatineschicht, welche nur sehr wenig Nährstoffe enthielt, z. B. auf 10 % Gelatine in Grabenwasser gelöst, in eine Glasdose mit aufgeschliffenem Deckel übergetragen. Die Schnitte wurden dann und wann genau mit der Loupe untersucht, und sobald sich daran Bacteriencolonien oder Schimmelrasen zeigten, wurden dieselben mit einem Platinspatel zu gleicher Zeit mit einem Stück Gelatine, woran sie hafteten, entfernt. Einzelne Präparate wurden auf diese Weise frei von fremden Mikroben gefunden. Diese wurden nun auf eine gute Nährgelatine übertragen. Wären die Schnitte alle sofort auf den guten Boden gelegt, so würden die fremden Pilze bald das Ganze verdorben haben. Wie gesagt war ein verdünntes Malz-

extract, erstarrt mit 10 % Gelatine, als eine solche gute Nährmasse erkannt. Die Schnitte wurden auf der weichen Unterlage mit zwei sterilisirten Nadeln auseinandergezogen und über die Oberfläche der Gelatine gerieben und ausgebreitet. Nach wenigen Tagen waren überall kleine, grüne Colonien sichtbar geworden, welche nun leicht in Reagentienröhren übergebracht und von da an in Reihenculturen fortgezüchtet werden konnten. Auch die Mycelfäden waren dabei zu kleinen greisen, nicht verflüssigenden Rasen mit einem sehr langsamen Wachstum ausgewachsen; es ist mir jedoch nicht gelungen, auf Gelatinplatten aus den beiden Componenten *Physcia parietina* zu reconstruiren<sup>1)</sup>. Auf Steinstücke habe ich bisher keine Aussaaten gemacht.

(Schluss folgt.)

### Litteratur.

Comptes rendus hebdomadaires des séances de l'académie des sciences. Paris 1890. I. Semestre. Tome CX. Janvier, Février, Mars.

(Fortsetzung.)

p. 201. Sélénotropisme. Note de M. Ch. Musset. Beobachtungen, welche der Verf. in hellen Juli- und Augustnächten an den blüthentragenden Axen von *Orehis globosa*, *Geum montanum*, *Sonchus Plumieri*, *Leucanthemum vulgare*, *Papaver Rhoeas*, *Lychnis*

<sup>1)</sup> Da es mir bei diesen Versuchen nur um die Gonidien zu thun war, habe ich dem Mycel nur beiläufig Aufmerksamkeit geschenkt. Die Möglichkeit besteht, dass ein fremder Pilz im Thallus eingedrungen war, und in meinen Platten zu einer Täuschung Veranlassung gegeben hat. Zwar theilten die in den Mycelknäueln eingeschlossenen Gonidien sich reichlich, allein es misslang, auf die nämliche Nährgelatine, worauf das Mycel kräftig wuchs, die Sporen von *Physcia* zur Auskeimung zu bringen.

Ich will bei dieser Gelegenheit bemerken, dass es keine geeignetere Methode giebt um reines Sporenmateriel von Lichenen und anderen Pilzen zu bekommen, wie die Gelatinemethode.

Eine Gelatineschicht, welche je nach Umständen gefärbt oder mit irgend einem Körper getrübt oder opalisirend gemacht worden ist, derweise, dass die Sporen gut contrastiren können, wird in eine Glasdose gegossen und nach dem Erstarren der bezügliche Pilz an eine Nadel und diese an einen Kork, welcher am Deckel der Dose verklebt ist, gestochen. Der freihängende Pilzkörper streut die Sporen auf die Gelatinoberfläche. Die *Physcia*sporen können darauf mit einer zehnfach vergrössernden Lupe erkannt werden.

<sup>1)</sup> Diese Bacterien gehörten meist zu einer einzigen braun gefärbten Art.

*Githago, Prenanthes purpurea, Hieracium* etc. anstellte, bewiesen ihm den richtenden Einfluss des Mondlichtes auf die Pflanzen. Er bezeichnete dabei von Zeit zu Zeit die Richtung, in der die Pflanze sich jeweils gekrümmt hatte, durch zwei in den Boden gesteckte Stäbe.

p. 253. Le mode d'union de la tige et de la racine chez les Gymnospermes. Note de M. P. A. Dangeard.

Bei Gymnospermen mit 2 Cotyledonen führte die Wurzel auch 2 Gefäßtheile, die mit 2 Basttheilen alterniren, die verticale Medianebene jedes Cotyledons geht durch einen Holztheil. Gymnospermen mit mehr als zwei Cotyledonen zeigen der Regel nach immer halb so viel Wurzelbündel als sie Cotyledonen besitzen, da jedes Wurzelbündel auf zwei Spursträngen inscirt ist, so dass die durch einen Holztheil der Wurzel durchgehende Verticalebene das Intervall zwischen zwei Cotyledonen durchschneidet; jedoch giebt es Ausnahmen. Manchmal theilt sich nämlich ein Cotyledonarspurstrang behufs Insertion der Wurzelbündel in zwei, während die übrigen Spurstränge sich normal verhalten. Oder ein Spurstrang vereinigt sich mit einem anderen, ohne dass er zur Insertion eines Wurzelbündels dient.

p. 292. Sur une matière colorante des Diatomus, analogue à la carotine des végétaux. Note de M. Raphael Blanchard.

Aus *Diaptomus bacillifer* Koelbel aus der Gruppe der Copepoden isolirte Verf. einen Farbstoff, der mit dem pflanzlichen Carotin entweder identisch ist oder ihm sehr nahe steht. Diese Thatsache erscheint dem Verf. erstens deshalb wichtig, weil damit ein neuer Stoff als bei Pflanzen wie bei Thieren vorkommend, erkannt worden ist, zweitens, weil der in Rede stehende Farbstoff das erste von einem Thier producirte Kohlehydrat ist, drittens, weil hiermit von Neuem bewiesen wurde, dass Carotin unabhängig von Chlorophyll entsteht.

p. 295. Sur la substance intercellulaire. Note de M. Louis Mangin.

Verf. will zeigen, dass die Mittellamelle, für welche er den Namen Intercellularsubstanz wieder eingeführt wissen will, aus unlöslichen Salzen der Pektinsäure besteht. Zum makrochemischen Beweise lässt er dünne Schnitte von Pflanzentheilen in Alcohol unter Zusatz von 20—25 % Salzsäure 24 Stunden maceriren, wäscht mit destillirtem Wasser und taucht die Gewebe in die Lösung von kohlen-saurem, phosphorsaurem, oelsaurem, kieselsaurem oder einem anderen alkalischen Kali- oder Natronsalz oder einem organischen (oxalsauren, citronensauren) Ammoniaksalz, worin bald die Zellen sich alle von einander trennen; nach dem Filtriren fällt auf Säurezusatz eine gelatinöse

Masse, die die von Fremy bezeichneten Eigenschaften der Pektinsäure besitzt. Bei dem beschriebenen Verfahren entzieht die Salzsäure den pektinsäuren Salzen die Basen und die Pektinsäure löst sich in den alkalischen Flüssigkeiten.

Zum Behuf des mikroskopischen Studiums der Intercellularsubstanz behandelt er dünne Schnitte aus erwachsenen Organen erst mit Salzsäurealcohol, dann mit Phenosafranin oder Methylenblau. Dabei färbt sich die frei gemachte Pektinsäure stärker als die pektinsäuren Verbindungen, die mit der Cellulose in den Zellwänden vorkommen. Auf diese Weise sieht man die Intercellularsubstanz auf der ganzen Berührungsfläche der Zellen eine dünne Schicht und in den Intercellularräumen Wülste bilden, die letztere oft ganz ausfüllen. Die Wülste bilden gewissermaassen Rahmen von Intercellularsubstanz in den Intercellularräumen, die zu mehreren in einander geschachtelt sind, wenn der Intercellularraum successive grösser wurde und demzufolge immer neue Rahmen gebildet wurden (Zwiebel von *Allium Cepa*). Die Aussenfläche der die Intercellularräume begrenzenden Membranen oder die Ränder der eben erwähnten Intercellularsubstanzrahmen sind oft mit Spitzen oder knopfartigen Verzierungen besetzt, die aus unlöslichen Pektaten bestehen und frei von Cellulose sind (Blätter von *Yucca, Iris, Helleborus niger*, Stamm von *Equisetum*.)

In Meristemen trennen sich die Zellen auch, wenn sie auf die oben beschriebene Weise behandelt werden; die jungen Zellwände sind also auch hier schon durch Intercellularsubstanz getrennt. Die Ueberführung der unlöslichen Pektate in lösliche gestattet die Bildung von Intercellularen. Manchmal geht auch in den Intercellularen erwachsener Gewebe die Pektinsäure in eine aufquellende, in Wasser lösliche Masse über. Die Intercellularen sind dann mit Gallerte erfüllt (*Allium, Narcissus*).

p. 298. Sur la localisation des matières colorantes dans les téguments séminaux. Note de M. Louis Claudel.

Verf. beschreibt die Bildung der Schutzschicht in der Samenschale zunächst bei *Asphodelus albus* und führt aus, wie die Nährstoffe durch diese Schicht nicht zu den ausserhalb gelegenen Theilen der Samenschale gelangen können und daher letztere zerrissen werden. Diese Schutzschicht kann aber auch oberflächlich sein (*Solanum, Anagallis arvensis, Mirabilis Jalapa, Cuscuta*). Bei *Geranium* werden die dritte und vierte Zellschicht von aussen gerechnet zur Schutzscheide, die beiden äussersten vergehen. Bei *Malva silvestris* verdickt die dritte Zellschicht ihre Wände und wird zur Schutzschicht, aber nur die äusserste vergeht, während die zweite, die mit Reservestoffen vollgestopft ist, ihre Wände verdickt. Diese Verhältnisse verfolgte Verf. auch noch bei einer Anzahl anderer

gen Nachbleibsel der männlichen Chlorophyllbänder sind, ganz natürlich, bleich, weil ihre Farbe infolge der Bearbeitung mit Reagentien, verschwunden ist.

Die am 31. Juli fixirten Zygoten sind völlig zum Keimen bereit und einige von ihnen keimen schon <sup>1)</sup>. Die jungen Keime enthalten je einen grossen Zellkern und je vier, mit Stärke versehene Chlorophyllbänder; in den noch nicht gekeimten Zygoten sind jedoch die Chlorophyllbänder, deren Zahl (4) leicht zu erkennen ist, ganz stärkefrei. Es scheint, als ob die Stärke sich nur bei der Keimung in den Chlorophyllbändern, wann diese letzteren aus der dunkeln Zygote an das helle Licht getreten sind, entwickelt. Die Reste der männlichen Chlorophyllbänder, die in reifen Zygoten und jungen Keimen als Klumpen einer formlosen braunen Masse erscheinen, sind natürlich in meinen Präparaten nicht wiederzufinden, weil die genannten braunen Klumpen, infolge der vorläufigen Fixirung in Chromsäure, welche sie entfärbt und auflöst, verschwunden sind. Aber in meinen Abbildungen von lebenden Exemplaren und den beifolgenden Notizen finde ich Hinweisungen auf das Vorhandensein dieser Körper.

Die Präparate anderer Species lasse ich einstweilen unbeschrieben; das Verhalten der Chlorophyllbänder ist bei ihnen ein gleiches, wie bei den obengenannten.

Auf Grund der beschriebenen Facta, unter welchen das Beispiel der erst erwähnten *Rhynchonema* sp. als Ausgangspunct dient, kann man zu dem Schlusse kommen, dass auch bei den *Spirogyraspecies* das Wesen des Geschlechtsprocesses in dem Verschmelzen der Kerne der männlichen und der weiblichen Zellen besteht. Alles das, was sonst ausser dem Kerne, der männlichen Zelle zugehörte — jedenfalls ihr selbstständiger Theil in dem Plasma — das Chlorophyllband (respective Bänder), wird während des Ruhezustandes der Zygote desorganisirt, sozusagen als Nahrungstoff, als ein fremder Körper

<sup>1)</sup> Soleh eine schnelle, innerhalb eines Monats stattgefundene Entwicklung der Zygoten der *Sp. jugalis* in meiner Wohnung in Ismail lässt sich durch die grosse Sommerhitze des vorigen Jahres in Bessarabien erklären. Die Temperatur meines Zimmers, sich sehr oft bis 35°, 40° C. erhöhend, war niemals niedriger als 27° C.

verzehrt, dabei bleibt eine braungelbe Masse als nicht assimilirtes Excret zurück. In den jungen Nachkömmling der conjugirten Zellen — den Keim des künftigen *Spirogyrafadens* — dringt nur der erneuerte Kern und die organisirten Theile des weiblichen Plasmas das weibliche Chlorophyllband (respective Bänder), welche in der Zygote unverändert blieben, hinein. Die Rolle der männlichen Zelle beschränkt sich somit ausschliesslich auf das Uebertragen ihres Kernes in die Zygote zur Vereinigung mit dem weiblichen, d. h. zur Uebergabe der Vererbungseigenschaften des Vaters, dessen Bewahrer der Kern in der männlichen Zelle war.

### Erklärung der Figuren.

(Alle Figuren sind 800 mal auf der Tafel vergrössert.)

Fig. 1—5. Zygoten von *Rhynchonema* sp.

Fig. 1. Durch treppenförmige Conjugation (*Conjugatio scaliformis*) entstandene Zygoten. Beide Chlorophyllbänder sind grün.

Fig. 2. Desgl. Eine andere Lage der Chlorophyllbänder; ein Band ist etwas bleicher als das andere.

Fig. 3. Durch seitliche Conjugation (*Conjugatio lateralis*) entstandene Zygote. Ein Chlorophyllband ist grün, das andere, dem Conjugationskanale zugekehrte (hier oben) hat schon eine gelbe Farbe angenommen und ist etwas dünner als das erste.

Fig. 4. Desgl. Statt des männlichen dem Conjugationskanale zugekehrten Bandes sieht man hier perl-schnurartig liegende, gelbe Partikel — die Reste des Bandes.

Fig. 5. Zygote in demselben Stadium wie Fig. 4, um den verschmolzenen Zellkern und das einzige Chlorophyllband, das mit Stärkeherden versehen ist, im optischen Querschnitt zu zeigen. Nach Behandlung in gewöhnlicher Weise in Chromsäure, Pikrocarmin, Canadabalsam.

Fig. 6—8. Zygoten von *Spirogyra* sp.

Fig. 6. Ein Theil einer jungen Zygote; die Haut ist noch nicht im Bräunen. Die Chlorophyllbänder sind reich an Stärke.

Fig. 7. Ein Theil einer schon braunen, aber noch durchsichtigen Zygote. Eine Hälfte der Chlorophyllbänder ist hier grün, die andere, die Form der Bänder noch beibehaltend, fängt schon an gelb zu werden.

Fig. 8. Eine braune Zygote mit vier dunkelgrünen, stärkefreien Chlorophyllbändern. Anstatt der anderen Chlorophyllbänder sieht man hier formlose, gelbe Klumpen — die Reste der Bänder.



# Culturversuche mit Zoochlorellen, Lichengonidien und anderen niederen Algen.

Von

M. W. Beyerinck.

Hierzu Tafel VII.

(Schluss.)

Wenn ich nun zur Betrachtung der morphologischen Verhältnisse von den *Physcia*-gonidien übergehe, so muss ich anfangen zu sagen, dass ich der sehr guten Darstellung von Famintzin und Baranetzky<sup>1)</sup> nur wenig beizufügen habe. Die Autoren macerirten den Thallus von *Physcia parietina* in einem Wasserstrom, um das Pilzmycel zum Zerfall zu bringen und cultivirten die Gonidien dann auf Ulmenrinde<sup>2)</sup>. Ist diese Methode eine wissenschaftliche? Nach unserer gegenwärtigen Erfahrung über die allgemeine Verbreitung der Mikroben und die durchgreifenden Fürsorgen, welche die Culturen derselben deshalb erheischen, wird man darüber verschiedener Ansicht sein können. Ich hebe dieses hervor, weil Baranetzky Kützing vorwirft, seine mikroskopische Wahrnehmungen, nach welchen die Gonidien von *Parmelia* niemals in *Parmelia* selbst übergehen<sup>3)</sup>, beanspruchen keinen wissenschaftlichen Werth. Ich kann Baranetzky in dieser seiner Beurtheilung nicht folgen. Wer mit Ueberzeugung eine Wahrheit ausspricht, trägt zur Wissenschaft bei, auch dann, wenn er nicht bekannt ist mit einem Fehler, den er hätte machen können, allein nicht gemacht hat. So Kützing, und so Famintzin und Baranetzky selbst.

In Bezug auf die Abbildungen unserer Autoren muss ich bemerken, dass ihre Fig.

<sup>1)</sup> Zur Entwickelungsgeschichte der Gonidien und Zoosporenbildung der Flechten. Mém. de l'Acad. de St. Pétersbourg. T. II. Nr. 9. p. 1. 1867.

Baranetzky, Beitrag z. selbstständigen Leben der Flechtengonidien. Bull. de l'Acad. de St. Pétersbourg. T. 12. p. 418. 1868.

<sup>2)</sup> Baranetzky untersuchte auch die Gonidien von *Collema pulposum* Ach., welche, auf fest gepresste Erde ausgesät, *Nostoc vesicarium* DC. erzeugten, und diejenigen von *Peltigera canina*, welche ebenso behandelt, eine phycochromhaltige Alge, *Polycoccus punctiformis* Ktzg. hervorbrachten. Meine Versuche, *Peltigeragonidien* zu cultiviren, sind misslungen.

<sup>3)</sup> Linnaea. 1835. p. 335.

7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 11, 15, 16, 17, 18, 19 auch nach meiner Ansicht sicher zu den Gonidien von *Physcia* gehören, dass ich dagegen in dieser Beziehung weniger sicher bin, bezüglich ihrer Abbildungen 1—6; besonders ihre Figur 1, worin man ein Pyrenoid oder einen Kern, und eine seitliche Vacuole gezeichnet findet, stimmt nicht mit meinen Beobachtungen. Denn meine Gonidien<sup>1)</sup>, sind eben von anderen niederen Algen, z. B. von *Chlorosphaera*, sofort zu unterscheiden, dadurch, dass sie überhaupt keine Vacuole und nur sehr schwierig einen Zellkern und kein Pyrenoid erkennen lassen<sup>2)</sup>. Uebrigens sind die Gonidien leicht kenntlich an der grünen Färbung des grobkörnigen Protoplasmas, welche im Centrum der Zelle viel intensiver ist, wie an der Peripherie, sodass hier das Chromatophor offenbar entweder nicht der Wand anliegt, sondern central ist, oder die Zellen ganz anfüllt.

In meiner Figur 4a, sieht man 5 Gonidien, welche infolge successiver Zweitheilung einer Mutterzelle in einer Nährlösung (3% Gelatine in Leitungswasser mit  $\frac{1}{10}$  % Pancreaspulver gelöst und die Lösung sterilisirt) eine »achtzählige« Familie bilden. Die Zellen haben sich in zwei Reihen gestellt, alle hängen längere Zeit zusammen. Links von a sieht man 3 noch vereinigte Gonidien, welche durch weniger regelmässige Zweitheilung aus einer Zelle entstanden sind. Bei b die Zwischenstadien. Die abgestreifte Zellwand (c, Fig. 4) zeigt mit Chlorzink-Jod Cellulosereaction.

In den Nährlösungen habe ich niemals andere wie solche ruhende Zellen oder Zellfamilien gefunden; Schwärmer sah ich darin nimmer. Um diese zu erhalten, muss man Gelatineculturen anfertigen, am besten, solche mit nur sehr wenig organischer Substanz; inzwischen fand ich auf allen untersuchten Unterlagen einzelne ausschwärmende Zellen, nur mit Ausnahme der concentrirteren

<sup>1)</sup> Man vergl. auch die sehr schönen Figuren von Bornet, Gonidies des Lichens. Ann. des sc. nat. Bot. T. 17. 1873.

<sup>2)</sup> Nachträgliche Bemerkung. Baranetzky's Beobachtungen sind vollständig richtig: Seitliche Vacuole und Zellkern können aber gänzlich unsichtbar werden; gegenwärtig finde auch ich dieselben in manchen meiner Culturen mit grösster Leichtigkeit. (Vergl. auch Schwendener, Flechtenthallus, in Nägeli's Beiträgen, Heft IV, S. 198. 1868).

Malzextractgelatinen, wo das Wachstum übrigens sehr üppig war. Ich fand aber stets, selbst unter den günstigsten Umständen, wie gesagt, nur vereinzelte Zellen, welche ausschwärmten, die meisten erzeugten bei der Theilung ruhende Tochterzellen, wie in den flüssigen Medien, ganz anders also wie bei *Chlorosphaera*, wo jede Zelle schwärmt.

Die normalen Schwärmer (*d*, Fig. 4) sind denjenigen von *Chlorosphaera* sehr ähnlich. Sie besitzen zwei Schwärmfäden; das farblose Vorderende lässt keinen Augenfleck erkennen. Die Grösse ist nicht immer dieselbe, Makro- und Mikrogonidien suchte ich aber ebenso vergebens, wie Copulationerscheinungen. Der Chlorophyllkörper ist einfach.

Die Entstehung der Schwärmer bei der Theilung scheint oft mit Schwierigkeiten verbunden zu sein, wodurch Theilproducte entstehen von einer sehr verschiedenen Gestalt und Structur, welche Licht auf die Entstehung der Schwärmfäden werfen.

Man sieht nämlich beim Zerdrücken unter dem Deckglase von schwärmerführenden Zellen, welche aber nicht von selbst ihren Inhalt entleert haben, Schwärmer hervortreten mit abweichenden Eigenschaften. So kann die Grösse und Form sehr verschieden sein, die Schwärmfäden können fehlen, der Chlorophyllkörper kann fehlen, und was uns hier am meisten interessirt, die Schwärmfäden können ausserordentlich fremdartig gestaltet, stark angeschwollen sein und dann keinen Zweifel übrig lassen, dass sie aus Protoplasma aufgebaut sind. In letzterer Beziehung verweise ich auf die Fig. *e*, *f*, *g*, Fig. 4. Bei *e* sieht man Schwärmer, wovon der eine zwei, der andere nur einen keulenförmig angeschwollenen Schwärmfaden besitzt. In dem einen dieser Schwärmer ist das Chromatophor zu zwei getheilt. Die Figuren *e*, *f* und *g* sind noch eigenthümlicher, insoweit dabei die stark angeschwollenen Geisseln ihr autonomes Leben als Protoplasten in einer selbständigen Bewegung äussern. Die Spitzen der Geisseln sind in diesem Falle stark angeschwollen, und diese Verdickungen besitzen das Bestreben, sich von dem eigentlichen Körper des Schwärmers zu entfernen, wobei der dünne Verbindungsfaden zuerst gespannt, schliesslich gesprengt werden kann. Dadurch in Freiheit gestellt, sieht man dann die kleinen vollständig farblosen Protoplastmakörperchen (*h*,

Fig. 6), frei umherschweben. Was aus diesen Bildungen entstehen kann, weiss ich nicht, ich glaube, dass sie bald absterben.

### Nach schrift.

Die von mir S. 745, Anm. 1 angeführte gehungene Cultur der *Hydrachlorellen* hat, bei weiteren Versuchen, zum Schlusse geführt, dass das *Hydrachlorophyll* sicher identisch ist mit *Chlorella vulgaris*. Die anfängliche Culturschwierigkeit jenes Chlorophylls bleibt einstweilen unverstanden, in den Reihenculturen ist dieselbe bald verschwunden, und damit die einzelne Differenz mit letztgenannter Alge.

### Figurenerklärung.

Fig. 1 (800). *Scenedesmus acutus* Meyen.

*a*. Loose herumtreibende Individuen in Wasser mit sehr wenig organischen Stoffen cultivirt.

*b*. Zellfamilien in sehr verdünnter organischer Nährlösung zusammengesetzt aus Gelatine mit Pancreaspulver verflüssigt.

*d*. Zelltheilung und Zellformen auf Malzextractgelatine.

*c*. Sticheultur in Grabenwasser-Gelatine. Die Zellen erzeugen ein Gelatine verflüssigendes Enzym.

Fig. 2 (800). *Chlorella vulgaris* n. s.

*a*. Cultur auf Malzextractgelatine.

*b*. Culturen in Wasser mit durch Pancreas oder durch Bacterien verflüssigter Gelatine.

*c* und *d*. Die freie Zelltheilung, *d* innerhalb Gelatine, *c* in Nährlösung.

Fig. 3. (800) *Chlorosphaera limicola* n. s.

*a*. Gewöhnliche Zellform in Wasser nur mit Spuren organischer Nahrung.

*b*. Schwärmerbildung unter den Bedingungen *a*.

*c*. Grosse Schwärmer.

*d*. Kleine Schwärmer.

*e*. Ruhende Zellen durch Theilung entstanden.

*f*. Zelltheilung und »Pseudoparenchym« auf Malzextractgelatine.

*g*. Zellen mit durch Jod sich blau färbendem Amylum auf Rohrzucker-Pepton-Gelatine im Dunkeln.

Fig. 4. (800) *Cystococcus humicola* Nägeli, Gonidien von *Physcia parietina*.

*a*. Wachstum in Wasser mit organischer Nahrung. Rechts eine »achtzählige Familie«.

*b*. Die Entstehung ruhender Zellen auf Malzextractgelatine.

c. Zellgruppe wie b, aus der Zellwand der Mutterzelle herausgetreten.

d. Schwärmer auf Ulmendecoeetgelatine.

e, f, g. Zur Entstehung der Schwärmfäden.

h. Schwärmer ohne Geißel und ohne Chlorophyll.

Fig. 5. (800) *Chlorella* (*Zoochlorella*) *conductrix* Brandt aus *Hydra viridis*.

a. Form und Theilung der Chlorellen im Thierkörper.

b. Angeschwollene Chlorellen in den Wassereulturen.

c. Rothe Pigmentkörner durch Metamorphose von Chlorellen in *Hydr*azellen entstanden.

d. (500) Optischer Längsschnitt durch die Spitze eines Armes von *Hydra viridis*. Die Chlorellen liegen auf der Aussenseite der Entodermzellen. In den Ektodermzellen liegen Nesselkapseln, wovon eine ausgeschneilt. Zwischen den Ektodermzellen liegen die »Drüsenzellen«.

e. Entodermzelle aus d mit Chlorellen und rothen Pigmentkörnern.

f. Einige Entodermzellen, worunter einzelne von den Chlorellen verdaute, deren Ueberbleibsel als rothe Körner in den »Nahrungsvacuolen« sichtbar sind.

Fig. 6. (150) *Stentor polymorphus* mit Pseudochlorellen.

a. Das Thier mit Nahrungsvacuolen, wovon einige (α) Pseudochlorellen enthalten, eine andere (β) *Raphidium polymorphum*.

b. (800) Vereinzelt und sich theilende Pseudochlorellen.

## Litteratur.

Comptes rendus hebdomadaires des séances de l'académie des sciences. Paris 1890. I. Semestre. Tome CX. Janvier, Février, Mars.

(Fortsetzung.)

p. 318. Sur une nouvelle plante reviviscente. Note de M. Ed. Bureau.

Verf. trocknete Stöcke von *Polypodium ineanum*, den einen 10 Tage bei 33–55°, den anderen im Vakuum über Schwefelsäure; beide Exemplare erschienen dann graubraun und kaum mehr grünlich. Die Fiedern waren röhrenförmig eingerollt, so dass die Oberseite concav geworden war und nur die von Schuppen bedeckte Unterseite sichtbar war, welche Schuppen vielleicht einen Schutz gegen zu starke Austrocknung bilden. Als nun die getrockneten Stöcke in Wasser getaucht wurden, rollte das in der Wärme getrocknete Exemplar nach 36 Stunden seine Fiedern völlig auf, wobei die jungen Blätter schön grün wurden; die im Vakuum getrocknete Pflanze

wurde bereits nach 9 Stunden wieder völlig frisch, alle Wedel wurden dabei grün. *Polypodium ineanum* gehört also zu den aus dem trocknen Zustand bei Befuchtung wieder auflebenden Gefäßkryptogamen, von denen Verf. früher als solche bezeichnete *Selaginella lepidophylla* Spring., *Ceterach officinarum* Willd., *Asplenium Ruta muraria* L., dann fügte D. Hanbury noch hinzu *Polypodium vulgare* L., *Cheilanthes odorata* Sw., *Asplenium lanceolatum* Sm., *Adiantum Capillus Veneris* L., die er ohne Schaden bei 66° trocknete, während sie bei 100° getödtet wurden; Duval-Jouve gab an, dass manche *Isoetes* nach jahrelangem Aufenthalt im Herbarium wieder aufleben können. Von Phanerogamen ist diese Erscheinung der Reviviscenz unbekannt.

p. 355. Sur la nutrition du champignon du muguet. Note de MM. Georges Linossier et Gabriel Roux.

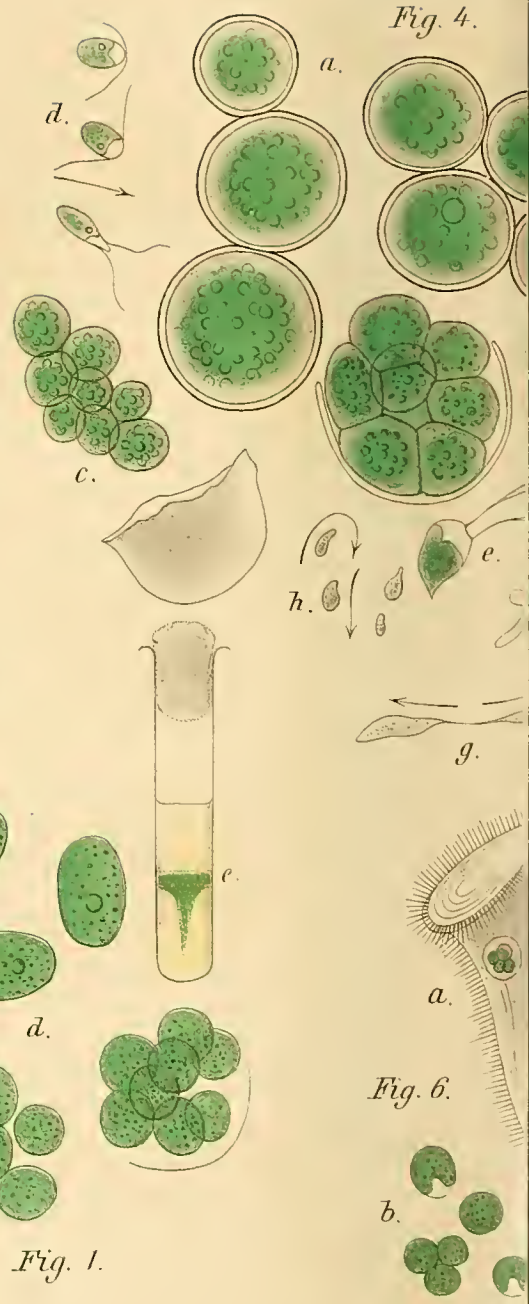
Der Soorpilz braucht Sauerstoff zum Wachstum und entwickelt sich desto kräftiger, je reichlicher Luftzutritt stattfindet und deshalb auch desto kräftiger, je dünner die Flüssigkeitsschicht ist, da er auf solchen Medien keine Decke bildet. Bei Sauerstoffmangel bildet der Pilz Fäden. Verf. kultivirten denselben in einer aus anorganischen Salzen zusammengesetzten Nährlösung und verglichen dann das Gewicht der erzielten Ernte an Pilzmasse bei Anwendung verschiedener kohlenstoffhaltiger und stickstoffhaltiger Nährstoffe; zu ersteren setzen sie ausser den Nährsalzen noch schwefelsaures Ammon, zu letzteren Rohrzucker. In den folgenden Tabellen bedeuten die Zahlen die in Procenten ausgedrückten Erntegewichte bezogen auf eines der höchsten derselben, welches = 100 gesetzt ist.

Glykose	100	Pepton	228
Rohrzucker	78	Leucin	112
Dextrin	70	Weins. Ammon	100
Mannit	63	Schwefels. Ammon	92
Alcohol	36	Glykokoll	88
Milchsaures Natron	37	Tyrosin	84
Milchsäure	27	Asparagin	84
Gummi	15	Harnstoff	52
		Acetamid	48
		Gelatine	24
		Albumin	16
		Salzs. Anilin	8
		Salpeters. Natron	2
		Stickstofffrei	2

Bei Anwendung anderer Nährstoffe beobachteten die Verf. kein wesentliches Wachstum. In alkalischer Lösung entwickelte sich der Soorpilz besser, als in saurer oder neutraler.

p. 363. Cultures expérimentales dans les hautes altitudes. Note de M. Gaston Bonnier.

Um die Einrichtungen zu untersuchen, welche es



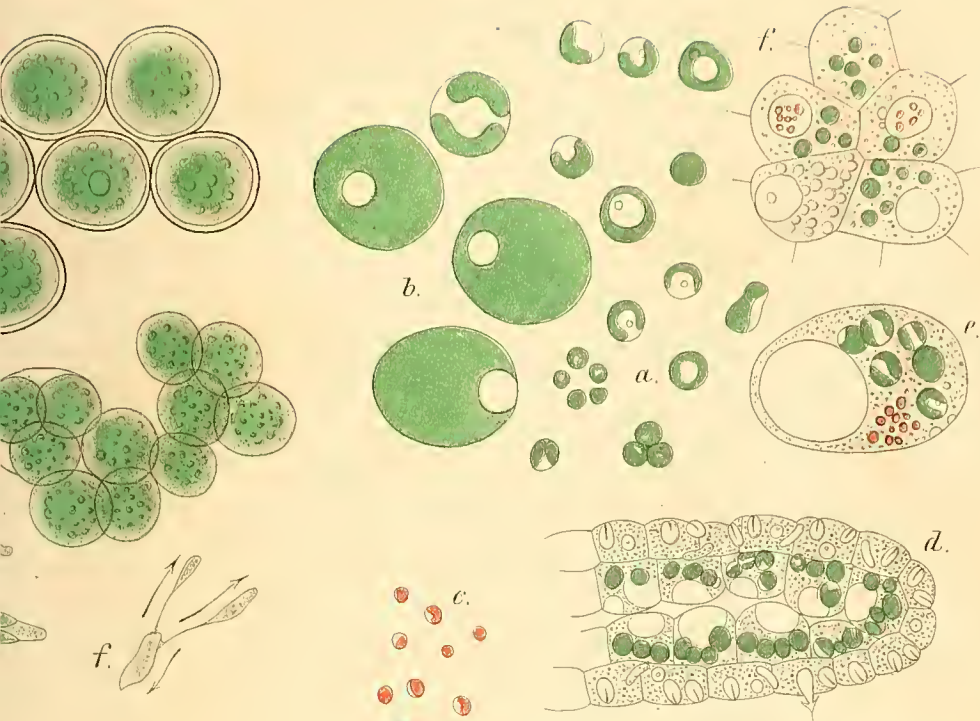


Fig. 5.

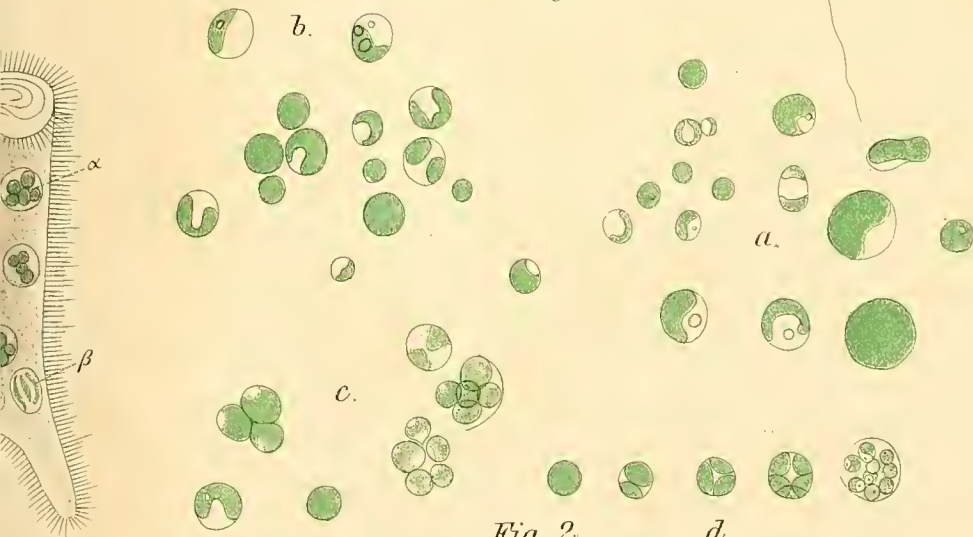


Fig. 2.