

Über die Cyanophyceen.

Von

E. Zacharias.

Mit einer Tafel.

In meiner Arbeit „Über die Zellen der Cyanophyceen“¹⁾ gelangte ich hinsichtlich der Beschaffenheit der Cyanophyceenzellen und ihrer Teilung zu folgenden Resultaten: Die Cyanophyceenzelle besteht, abgesehen von ihrer Wandung, aus einem farblosen Zentralkörper und einem diesen umgebenden gefärbten peripheren Plasma. In letzterem kommen farblose Körner vor, deren Substanz Borzi „Cianoficina“ genannt hat. Im Zentralkörper findet sich eine durch bestimmte Reaktionen scharf vom Cyanophycin geschiedene Substanz, die „Zentralsubstanz“. Cyanophycin und Zentralsubstanz können in verschiedenen Zellen derselben Spezies in sehr wechselnden Mengen vorkommen, sie können auch ganz fehlen. Das Vorhandensein oder Fehlen und die Quantität dieser Stoffe kann durch die Art der Kultur bedingt sein.

Teilt sich die Cyanophyceenzelle, so tritt die Anlage der trennenden Scheidewand zunächst in Form einer Ringleiste in mittlerer Höhe ihrer Seitenwandung auf. Während die Ringleiste sich zu einer Scheidewand vervollständigt, bleibt sie ständig von gefärbtem peripherem Plasma umkleidet. Der Zentralkörper erscheint zunächst biskuitförmig, endlich mit Vollendung der Zellteilung in zwei Hälften gesondert.

Der Zentralteil der Cyanophyceenzelle unterscheidet sich in seinem ganzen Verhalten erheblich von den genauer untersuchten Zellkernen anderer Organismen. Insbesondere fehlt demselben ein den Kerngerüsten anderer Organismen gleichartiges Gebilde, und dieser Mangel trifft zusammen mit dem Fehlen der geschlechtlichen Fortpflanzung bei den Cyanophyceen.

In der Folge haben sich zahlreiche Forscher mit der Cyanophyceenzelle beschäftigt, und dabei namentlich die Fragen nach dem Vorhandensein von Chromatophoren, der Beschaffenheit des Zentralkörpers, der Lage und Beschaffenheit der körnigen Einschlüsse behandelt.

Eine Nachprüfung meiner früheren Resultate²⁾ ergab dann im wesentlichen eine Bestätigung meiner Angaben, in einigen Punkten eine Erweiterung derselben.

¹⁾ E. Zacharias. Über die Zellen der Cyanophyceen. Bot. Ztg. 1890.

²⁾ E. Zacharias. Über die Cyanophyceen. Abhandl. aus dem Gebiete der Naturwissenschaften, herausgeg. v. Naturw. Verein, Hamburg, Bd. XVI, 1900.

In den letzten Jahren sind Arbeiten von Macallum, Hegler, Bütschli, Massart, Kohl und Wager über den Gegenstand veröffentlicht worden. Die Arbeit Heglers habe ich bereits besprochen.¹⁾ Bezüglich dieser Besprechung meint Bütschli²⁾, ich hätte Hegler vorgeworfen, er sei mit vorgefaßten Meinungen an seine Untersuchung herantreten, derartige Vorwürfe würden aber besser unterbleiben, da sie an der Sache doch nichts förderten. Letzteres ist sicher richtig für den Fall, daß die fraglichen Vorwürfe lediglich in allgemeinen persönlichen Eindrücken des Autors wurzeln. Hier liegt die Sache aber doch anders, da Hegler selbst hervorhebt, er sei „nicht unvoreingenommen an die Untersuchung herantreten“.³⁾ Die Berücksichtigung dieses Umstandes ist hier nicht nur förderlich, sondern notwendig, wenn es sich darum handelt zu verstehen, wie Hegler zu seiner Auffassung der Cyanophyceenzelle gelangt ist.

Die Publikationen Wagers⁴⁾ sind vorläufige Mitteilungen. Ich halte es für zweckdienlich, in eine Diskussion der Ansichten Wagers erst dann einzutreten, wenn seine Untersuchungen abgeschlossen vorliegen werden. Von den in den übrigen neueren Arbeiten behandelten Fragen soll hier zunächst die Frage nach der Beschaffenheit des Zentralkörpers erörtert werden.

Im Zentralkörper habe ich bereits 1887⁵⁾ eine Substanz nachweisen können, welche in bestimmten Reaktionen mit genauer untersuchten Nucleinen übereinstimmt. Diese Substanz habe ich später als „Zentralsubstanz“⁶⁾ und die Körper, welche aus derselben bestehen, als „Zentralkörper“⁷⁾ bezeichnet. Hegler und Kohl⁸⁾ haben den bereits bekannten Reaktionen der Zentralkörper einige weitere hinzugefügt. Ersterer nennt dieselben „Schleimvacuolen“, während Kohl den von mir benutzten Namen „Zentralkörper“ verwendet.

Sonderbar sind die Angaben Kohls über das Verhalten der Zentralkörper gegen verdünnte Säuren. P. 14 sagt Kohl in Übereinstimmung

¹⁾ Bot. Ztg. 1901, Nr. 21.

²⁾ Bütschli. Bemerkungen über Cyanophyceen und Bacteriaceen. (Archiv für Protisten-Kunde. Jena 1902, Bd. I.).

³⁾ Hegler. Untersuchungen über die Organisation der Phycochromaceenzelle. Pringsheims Jahrbücher Bd. 36, 1901, p. 234.

⁴⁾ Wager. Cytology of Cyanophyceae. Report of the 71. Meeting of the British Association. 1901, p. 830. The cellstructure of the Cyanophyceae. Proceedings of the Royal Soc. Vol. 72, Okt. 1903.

⁵⁾ E. Zacharias. Beiträge zur Kenntnis des Zellkernes und der Sexualzellen. Bot. Ztg. 1887.

⁶⁾ l. c. 1890.

⁷⁾ l. c. 1900, p. 26. Hier sind auch die abweichenden Bezeichnungen anderer Autoren zusammengestellt.

⁸⁾ Kohl. Über die Organisation und Physiologie der Cyanophyceenzelle und die mitotische Teilung ihres Kernes. Jena 1903.

mit meinen früheren Befunden, sie seien unlöslich in verdünnter Salzsäure, p. 16 heißt es aber, „die Zentralkörner lösen sich unter Quellung in verdünnten Säuren“, p. 17 „in verdünnten Säuren dagegen schwer löslich“, p. 220 „1 ‰ Salzsäure unlöslich, 3 ‰ Salzsäure unlöslich“; p. 20 50 ‰, 1 ‰, 0,5 ‰ lösen nach starker Quellung bei langer Einwirkung. Schwache Quellung und Hohlkugelbildung (Ringkörper) schon bei 0,28 ‰.

Hier kommt das charakteristische, die Zentralkörner scharf von den Cyanophycinkörnern sondernde Verhalten nicht hinlänglich zum Ausdruck. „Läßt man auf Alkoholmaterial unter dem Mikroskop 0,28 ‰ Salzsäure einwirken, so quellen die Zentralkörner zuerst ein wenig, dann gestalten sie sich aber zu sehr scharf begrenzten, glänzenden Hohlkugeln“. ¹⁾ Bestimmte Schlüsse hinsichtlich der chemischen Beschaffenheit der Zentralkörner gestattet die Gesamtheit der seither vorliegenden mikrochemischen Daten nicht. Kohl bemerkt p. 15: „Verschiedene Male tauchte die Vermutung auf, es handele sich in den Zentralkörnern um Paramylum [oder eine paramylumähnliche Substanz] (Hansgirg, Cohn)“. Des weiteren führt dann Kohl aus, bereits Deïnega habe die Paramylumnatur der Zentralkörner in Abrede gestellt. Dies ist nicht richtig. Hansgirg hat das Paramylum nicht mit den Zentralkörnern, sondern mit dem Cyanophycin verglichen. Die Identität beider Dinge habe ich sodann (1890, p. 14) in Abrede gestellt, ebenso Deïnega (1891).

Eine Nachprüfung der von Hegler und Kohl beschriebenen Reaktionen der Zentralkörner und eine Diskussion der Frage, inwiefern etwa diese Reaktionen die Identifizierung der Zentralsubstanz mit bestimmten Nucleinen gestatten würden, soll hier nicht erfolgen. Jedenfalls ist das Verhalten der Zentralkörner, wie ich das bereits l. c. 1890 ausgeführt habe, von demjenigen der nucleinhaltigen Bestandteile in den Zellkernen anderer Organismen durchaus verschieden. Zentralkörner können den in Teilung begriffenen Zellen völlig fehlen.

Hinsichtlich der Lage der Zentralkörner im Zentralkörper schließt sich Kohl im wesentlichen meinen früheren Angaben an, während Hegler seine Schleimvacuolen (= Zentralkörner) in das periphere Plasma verlegt. Kohl ist der Meinung, daß die Zentralkörner stets im Zentralkörper liegen, während ich (l. c. 1900, p. 32) für bestimmte Fälle die Möglichkeit offen ließ, daß Palla's Auffassung von der Anlagerung der Zentralkörner an den Zentralkörper die richtige sei. Auch Massart ²⁾ bemerkt: „pour ma part j'ai toujours vu qu'elles étaient à l'intérieur du corps central ou à sa surface“. Das hier und da beobachtete Vorkommen von Zentralkörnern, welche anscheinend ohne Verbindung mit dem Zentralkörper im peripheren

¹⁾ E. Zacharias 1900, l. c. p. 27.

²⁾ Massart. Sur le protoplasme des Schizophytes. Extrait du T. LXI des mémoires couronnés et autres mémoires publiés par l'Acad. royale de Belgique. 1901. p. 21.

Plasma liegen, hatte ich in Beziehung gesetzt zu der unregelmäßigen Gestalt der Zentralkörper, „welche mit sehr weit in das periphere Plasma einspringenden Fortsätzen“ versehen sein können. Ich habe auf die Möglichkeit hingewiesen, daß ein solcher zarter Fortsatz sich in Einzelfällen der Beobachtung entziehen, und so ein Zentralkorn, welches tatsächlich von dem Fortsatz erreicht wird, ohne Verbindung mit dem Zentralkörper, frei im peripheren Plasma zu liegen scheinen könne (l. c. 1900, p. 13, 33). Kohl (l. c. p. 13) hat den Nachweis für die Richtigkeit meiner Annahme erbracht, spricht indessen mehrfach von seiner „Entdeckung der wahren Gestalt des Zentralkörpers“, während diese „wahre Gestalt“ doch schon von Fischer, Dangeard, Massart und mir beschrieben worden ist. Fischer hat sie allerdings nach Kohl (p. 142, 147) für ein Artefact erklärt, ich habe sie jedoch für lebende Zellen beschrieben (1900, p. 12, 13), ebenso Massart (p. 19). Überhaupt kann man Kohl den Vorwurf großer Unachtsamkeit in der Behandlung der einschlägigen Literatur nicht vorenthalten. So sagt Kohl bei seiner Erörterung der Lage der Zentralkörper, p. 12: „Leider hat auch Zimmermann in seiner botanischen Mikrotechnik die Verhältnisse falsch zur Darstellung gebracht. Zimmermanns Schleimkugeln (*Scytonema* und *Nostoc*, mit Essigkarmin gefärbt) sind Cyanophycinkörner; seine Fig. 57 deckt sich fast ganz mit der Fig. 2 und 24 der Taf. I Zacharias (107 IX)¹⁾, wo die „Körner“, wie die dazu gehörige Erklärung im Text beweist, peripher gelagerte Cyanophycinkörner sind. Mit Essigkarmin färben sich die Schleimkugeln (= Zentralkörner) niemals.“

Daß Zimmermann diejenigen Gebilde, welche Borzi Cyanophycin nennt, als Schleimkugeln bezeichnet, ergibt sich ohne weiteres aus den Mitteilungen Zimmermanns. Von einer falschen Darstellung der Verhältnisse kann gar keine Rede sein, sondern lediglich von einer un Zweckmäßigen Wiederverwendung des Schmitzschen Namens „Schleimkugeln“. Zimmermanns Fig. 57,1 ist nach meiner Fig. 2 (1890) entworfen, mit der Fig. 24 (1890) hat sie nichts zu tun. Der Fig. 57,2 kann vielleicht meine Fig. 29 (1890) zu Grunde gelegt worden sein. Meine Abhandlung 1900, deren Fig. 2 und 24 Kohl zitiert, hat zu der Zimmermannschen Arbeit, welche 1892 erschienen ist, keine Beziehungen. Fig. 2, 1890 ist die Darstellung einer lebenden Zelle. In Fig. 24, 1890 sind mit Essigkarmin gefärbte Körner abgebildet, desgl. in Fig. 24, 1900. Daß es sich hier um Cyanophycinkörner handelt, habe ich ausgeführt und auch Zimmermann hat sie nicht für etwas anderes ausgegeben wollen, wenn er sie Schleimkugeln nannte.

Außer den Zentralkörnern enthalten nach Kohl die Zentralkörper Chromatinkörner. Da nach Kohl (p. 123) der Zentralkörper selten im

¹⁾ Hinweis auf Kohls Literaturverzeichnis = Über die Cyanophyceen 1900.

Zustande der Ruhe ist, so ist es „schwer einen Zentralkörper zu finden, in dem sich ein Gerüst konstatieren läßt, dessen Hauptmasse von zarten, sich meist nicht tingierenden Lininfäden gebildet wird, in welchem die stark tingierenden (sic!) Chromatinkörperchen liegen“. Dieser Zustand scheint so schwer auffindbar zu sein, daß Kohl ihm niemals gesehen hat, dem Kohl fährt fort: „Der Zentralkörper scheint vielmehr immer im Teilungszustand oder in Vorbereitung zu diesem befindlich zu sein¹⁾, der Kernfaden ist immer dick und relativ kurz, oder an seiner Stelle erblickt man Chromosomen in mannigfacher Gruppierung“. Demgegenüber ist dann aber wieder zu betonen, daß sich in den Tafeln mehrere Zentralkörper finden, welche als ruhende bezeichnet werden, in welchen dann aber von farblosen Lininfäden, welchen stark gefärbte Chromatinkörnchen eingebettet sind, nichts zu sehen ist (vergl. indessen p. 169).

In den „Chromosomen“ scheint Kohl gesonderte Chromatinkörnchen mit Sicherheit nicht gesehen zu haben, wenigstens ist in seinen Figuren hier von solchen Körnchen mit Bestimmtheit nichts zu erkennen. Die „Chromosomen“ zeichnen sich durch dunkleren Farbenton vor ihrer Umgebung aus, die nicht homogene Beschaffenheit, welche sie zeigen, entspricht derjenigen des Papiere, wie sie sich auch in dem Aussehen der Striche ausdrückt, welche die Zellwände darstellen. Kohl bemerkt allerdings p. 170: „Die einzelnen Chromosomen sind in ihrem Längsverlauf nicht homogen, sondern zeigen dunklere Partien, wahrscheinlich körnige Einlagerungen, wie das auch in einem großen Teil meiner Abbildungen sichtbar ist“. Wenn Kohl vom Verhalten der Chromatinkörper spricht, muß er wohl meist das Verhalten der Gesamtmasse der als Kernfäden und Chromosomen gedeuteten Gebilde im Auge haben, teilweise scheint es sich um kleine Zentralkörnchen zu handeln. P. 125 heißt es nämlich: das Chromatingerüst tritt nach Einwirkung schwach salzsaurer Pepsin-

¹⁾ Es erscheint fraglich, ob die Teilungsstadien, welche man beobachten kann, überall zu tatsächlich im Fortgange begriffenen Teilungsvorgängen gehören. Gewisse Beobachtungen scheinen mir die Möglichkeit offen zu lassen, daß bei den Cyanophyceen nicht selten begonnene Teilungen zum Stillstand kommen und daß Zellen mit unvollendeten Scheidewänden längere Zeit in diesem Zustande verharren können. In einer Nostockolonie, deren Zellen zu einem großen Teil abgestorben waren, fand ich vielfach, angrenzend an todt, callabierte Zellen, turgescente Zellen mit größeren oder kleineren Vacuolen im peripheren Plasma. Methylenblau färbte die Zentralkörper in üblicher Weise, die Vacuolen blieben farblos. In diesen mit Vacuolen versehenen Zellen konnte ich in einer Reihe von Fällen Teilungszustände mit unvollendeten Scheidewänden auffinden. Daß hier aber langsam absterbende Zellen vorlagen, deren Teilung zum Stillstand gelangt war, halte ich für wahrscheinlich. (Vergl. l. c. 1890 p. 5, 1900 p. 20. Der hier von mir zitierten Literatur ist noch beizufügen: Brand, Der Formenkreis von *Gloeocapsa alpina*. Bot. Centrblatt LXXXIII, p. 229, 1900, ferner Massart l. c. p. 16 und Kohl p. 117. Kohls Darstellung der einschlägigen Literatur ist auch an dieser Stelle nicht zutreffend).

lösung mit seinem starken Nucleinglanz äußerst stark hervor, und p. 126: in einem Gemisch von 1 vol. conc. Essigsäure + 1 vol. Wasser oder in 0,3 % Salzsäure treten die Chromosomen mit dem bekannten Nucleinglanz scharf hervor. Nun habe ich mich vielfach davon überzeugen können, daß in Zellen, welche sich in Teilung befinden, Substanzen, die das geschilderte Verhalten zeigen, völlig fehlen können. Wo ich derartige Substanzen fand, handelte es sich um Zentralkörper, welche in sehr verschiedener Größe auftreten können (vergl. l. c. 1900, p. 30). Bei den Versuchen, welche den zitierten Angaben Kohls zu Grunde gelegen haben, werden Kohl wahrscheinlich Zentralkörper mit kleinen Zentralkörnchen zu Gesicht gekommen sein.

Damit soll selbstverständlich noch nicht bewiesen werden, daß die Zentralkörper nicht außer den Zentralkörnchen noch eine Substanz enthalten könnten, welche vielleicht den Namen Chromatin verdient. Das von Kohl auf Seite 125 und 126 geschilderte Verhalten ist bestimmten, seither näher untersuchten Chromosomen eigentümlich, und kommt bestimmten, als nucleinsäurehaltig erkannten Chromatinen (= in Chromosomen vorhandenen, färbbaren Stoffen) zu. Andererseits ist aber festgestellt, daß die chemische Beschaffenheit von Chromatinen verschiedener Herkunft, verschieden sein kann, so daß es durchaus nicht statthaft ist, aus dem Versagen bestimmter Reaktionen auf Nichtvorhandensein von Chromatin im Zentralkörper zu schließen. Die Sätze nach dem zweiten Absatz auf Seite 125 würde Kohl nicht haben schreiben können, wenn er meine, die chemische Beschaffenheit der Zellkerne etc. behandelnden Arbeiten¹⁾ mit einiger Aufmerksamkeit gelesen haben würde.

Die Frage, welche nun zunächst zu behandeln ist, ist die, ob in den Zentralkörpern Gebilde erkannt worden sind, die zufolge ihrer Gestalt und ihres Verhaltens während der Teilung als Chromosomen bezeichnet werden können. Meiner Meinung nach ist das nicht der Fall.

Auf Grund einer eingehenden Betrachtung von Präparaten, welche mir Herr Prof. Kohl in seinem Arbeitszimmer demonstrierte, kann ich nur sagen, daß mir dieselben, ebenso wie früher die Heglerschen Präparate, wohlbekannte Bilder zeigten. Die Präparate sind ebensowenig wie das Kohlsche Buch oder die Publikationen Bütschlis²⁾ geeignet, den Nachweis für das Vorhandensein von Chromosomen zu erbringen.

¹⁾ E. Zacharias. Über Nachweis und Vorkommen von Nuclein. Berichte der deutschen Botan. Gesellsch. 1898, Bd. XVI, Heft 7.

Über die achromatischen Bestandteile des Zellkerns. Ebenda, 1902, Bd. XX, Heft 6.

²⁾ Bütschli. Notiz über Teilungszustände einer Nostocacee. Verh. des naturhist.-medic. Vereins zu Heidelberg, N. F. VI. Bd., I. Heft, 1898.

Bemerkungen über Cyanophyceen und Bacteriaceen. Archiv für Protistenkunde, I. Bd., 1902.

Die stärker gefärbten, mannigfach gestalteten Teile der Zentralkörper, wie sie die Präparate und die Figuren der Autoren zeigen, halte ich nicht für Chromosomen, sondern für (teilweise auch durch das Präparationsverfahren deformierte) Vorsprünge, Leisten etc. der Zentralkörper. Wie derartige Dinge Chromosomen-artige Gebilde vortäuschen können, davon kann man sich unschwer durch die Betrachtung der Chromatophoren gewisser Desmidiaceen überzeugen.¹⁾ Es ist nicht unmöglich aus den mannigfachen Bildern, welche Cyanophyceenpräparate darbieten, solche auszuwählen, welche karyokinetischen Figuren einigermaßen ähnlich sehen.²⁾ Insbesondere müssen bei der Durchschnürung eines Körpers von dem Umriß des Zentralkörpers Bilder entstehen können, wie sie Kohl z. B. in Fig. 9 Taf. K wiedergibt. Ob die Teilung des Zentralkörpers passiv oder aktiv erfolgt, ist für die in Rede stehende Frage gleichgültig, und überhaupt nicht in der Weise zu entscheiden, wie das von Kohl angestrebt wird³⁾.

Bei in Teilung begriffenen Zentralkörpern hat Kohl Fasern beobachten können, welche er als Spindelfasern bezeichnet. Sie werden „häufig“ (p. 181) in dem isthmusartigen Verbindungsstück sichtbar. P. 173 heißt es: „Innerhalb der eingeschnürten Partie des Kernes konnte ich bei genügender Fixierung und Färbung deutlich Spindelfasern in wechselnder Zahl erkennen. Näheres darüber p. 170“. Hier findet man nun aber die Angabe: „die Fasern werden selten deutlich, der am meisten eingeschnürte Verbindungsteil ist wenig oder kaum gefärbt und erscheint mitunter so gestreift, daß man Verbindungsfasern annehmen muß“. Es ergibt sich aus diesen Angaben, daß es sich hier um höchst fragwürdige, bei gewissen Präparationsmethoden erscheinende Gebilde handelt. Nach Macallum⁴⁾ (p. 26) kommt im Zentralkörper stets eine chromatinähnliche Substanz vor. Von dieser heißt es dann aber: „This chromatin-like substance never appears to enter any condition resembling in the remotest degree, that of mitosis“. Die Angaben Macallums von dem Vorhandensein einer chromatinähnlichen Substanz scheinen mir auf Reaktionen zu fußen, welche Macallum an der Grundmasse des Zentralkörpers und dieser

¹⁾ De Bary. Untersuchungen über die Familie der Conjugaten. Leipzig 1858, p. 40 unten und T. V, Fig. 9 etc.

Alfred Fischer. Über das Vorkommen von Gipskristallen bei den Desmidiaceen. Pringsh. Jahrb. Bd. 14, p. 145, 1884.

²⁾ Versuche, welche dergleichen bezwecken, werden sich voraussichtlich von Zeit zu Zeit wiederholen.

³⁾ Vergl. Pfeffer. Pflanzenphysiologie. 2. Aufl. 1897, Bd. 1, p. 39, 48.

E. Zacharias. Über die achromatischen Bestandteile des Zellkerns. Berichte d. deutschen Botan. Gesellsch. 1902, p. 309.

⁴⁾ Macallum. On the cytology of non-nucleated organisms. (Reprinted by permission from the Transactions of the Canadian Institute, 1898—99).

eingebetteten kleinen Zentralkörnchen beobachtet hat (p. 25). Daß meine „Zentralsubstanz“ identisch ist mit der Substanz der Zentralkörner, welche Macallum als „granules of the first type“ bezeichnet, ist letzterem entgangen. Über das Verhalten dieser Körner gegen Pepsinlösungen finden sich bei Macallum Angaben, welche weiterer Aufklärung bedürfen (vgl. p. 32, 35 und die Erklärung zu der hier zitierten Fig. 19 auf p. 69).

Nach alledem entspricht meine Äußerung vom Jahre 1890 „Jedenfalls unterscheidet sich der Zentralteil der Cyanophyceenzelle in seinem ganzen Verhalten erheblich von den genauer untersuchten Zellkernen anderer Organismen“ auch heute noch dem Stande unserer Kenntnisse. Trotzdem wäre es ja denkbar, daß phylogenetische Beziehungen zwischen den Zentralkörpern und den Kernen höherer Organismen bestehen. Indessen halte ich das Spekulieren über diese Dinge auf Grund des Wenigen, was wir über dieselben wissen, einstweilen kaum für förderlich.

An dieser Stelle mag auch noch des Vorkommens von Gasvacuolen¹⁾ im Zentralkörper gedacht werden. Massart (l. c. p. 16) hat bei *Phormidium* zahlreiche kleine Gasvacuolen im Zentralkörper gefunden, desgleichen bei *Anabaena*. Ebenso schienen mir bei der Untersuchung einer *Nostocacee* (l. c. 1900, p. 48) Gasvacuolen den Raum einzunehmen, den sonst der Zentralkörper einzunehmen pflegt. Kohl hat hingegen (p. 120) Gasvacuolen nur außerhalb des Zentralkörpers gefunden. Dieser Befund kann selbstverständlich nicht (wie das indessen Kohl anzunehmen scheint) beweisen oder wahrscheinlich machen, daß Gasvacuolen im Zentralkörper überhaupt nicht vorkommen. Im Dezember 1902 fand ich in einer Charenkultur des hiesigen Victorienhauses eine *Anabaena* mit vielen in Teilung begriffenen Zellen, welche in vielen Fäden große, zentrale Gasvacuolen enthielten. In lebenden Zellen schien die große zentrale Vacuole unmittelbar an das gefärbte periphere Plasma zu grenzen. Fig. 37 stellt eine in Teilung begriffene Zelle mit biskuitförmig eingeschnürter Vacuole dar. Gleichzeitig fand ich auch bei einer *Lyngbya*, welche in einem Wasserkasten des Vermehrungshauses vegetierte, zentrale Gasvacuolen in manchen Zellreihen. Wurden die letzteren drei Tage lang in stark verdünnter Methylenblaulösung²⁾ belassen, so fanden sich Zellen mit blaugrün gefärbtem peripherem Plasma, welche Gasvacuolen innerhalb des blau gefärbten Zentralkörpers zeigten. Besonders klare Bilder erhielt man sodann durch Zusatz von 2 ‰ Salzsäure. Die Intensität der Färbung

¹⁾ Die Frage, ob die von Klebahn als Gasvacuolen aufgefaßten Gebilde diese Bezeichnung verdienen oder nicht, soll hier nicht erörtert werden; vgl. Molisch, Die sogenannten Gasvacuolen und das Schweben der Phycochromaceen (Bot. Ztg. 1903), ferner Chodat, Sur la structure de deux algues pélagiques (Journal de Botanique. T. X, 1896).

²⁾ Bezüglich der von mir verwendeten Methylenblau-Präparate vgl. 1900, p. 46.

des peripheren Plasmas wurde vermindert, die scharfe Abgrenzung der Gasvacuolen schwand, es blieben aber farblose Räume entsprechender Art in dem himmelblau gefärbten Zentralkörper kenntlich.

Das periphere Plasma. Bezüglich der Flußsäureversuche Fischers äußert sich Kohl in ähnlicher Weise, wie das von meiner Seite (l. c. 1900) geschehen ist. Allerdings scheint Kohl meine Nachprüfung der Versuche Fischers unbekannt geblieben zu sein.

Kohls Ausführungen auf Seite 154 und 155 über „Bestrebungen“ von Bütschli und mir, Verdauungsversuche „zum Beweis der substantiellen Absonderung des Zentralkörpers vom umgebenden Cytoplasma (Rindenschicht) zu benutzen“, sind nur begreiflich, wenn man annimmt, Kohl habe sich darauf beschränkt, meine diesbezüglichen Arbeiten ¹⁾ oberflächlich zu durchblättern. Wissenschaftliche Diskussionen können aber nur dann nützlich sein, wenn die Teilnehmer es über sich gewinnen können, der Sache so viel Zeit und Sorgfalt zu widmen, wie es nötig ist, um die Meinung anderer zu erfahren.

Hinsichtlich der Verteilung des Farbstoffs im peripheren Plasma hatte bereits Hieronymus ²⁾ angegeben, daß das letztere grüne, stark lichtbrechende, kugelige Körper (Grana) enthalte, welche einer homogenen, minder stark lichtbrechenden Masse eingebettet zu sein schienen. Auch ich ³⁾ konnte an einem günstigen Objekt entsprechendes beobachten. Ebenso hat Hegler ⁴⁾ die grünen Körperchen gesehen, aber nunmehr als Chromatophoren betrachtet. Kohl hat sich letzterer Auffassung angeschlossen. Möglicherweise wird sich später der Nachweis ihrer Berechtigung erbringen lassen, daß er schon jetzt, wie Kohl meint, erbracht sei, kann nicht zugegeben werden, da die Kleinheit der fraglichen Gebilde es bisher unmöglich gemacht hat zu entscheiden, ob ihre Beschaffenheit derjenigen der Chromatophoren anderer Pflanzen entspricht.

Die Cyanophycinkörper. Daß die Cyanophycinkörper im peripheren Plasma liegen, habe ich festgestellt. Demgegenüber klingt es sonderbar, wenn Kohl (p. 35) bemerkt: „die Cyanophycinkörper liegen ausschließlich im Cytoplasma, im Zentralkörper kommen sie niemals vor“. Das wurde übrigens auch schon früher hier und da beobachtet resp. behauptet, so von Zacharias für die Gonidien von *Peltigera canina*

¹⁾ Vergl. u. a. l. c. 1900, p. 6.

²⁾ Hieronymus. Beiträge zur Morphologie und Biologie der Algen (Beitr. zur Biologie d. Pfl., herausgeg. von F. Colm, V. Bd., 3. Heft, 1892).

³⁾ E. Zacharias. Über die Zellen der Cyanophyceen. Bot. Ztg. 1892, Nr. 38, ferner Bot. Ztg. 1901, Nr. 21.

⁴⁾ Vergl. hingegen Macallum, l. c. p. 20, 28.

(Fig. 23, 107, IX), für Nostoczellen aus den Gunnerastämmen (Fig. 29, Taf. 1, 107, III) und für Lyngbyafäden (1900 p. 34)“. Nicht nur für diese Einzelfälle, sondern für alle von mir daraufhin geprüften Cyanophyceen (Scytonemen, Oscillarien, Tolypothrix, Nostoc) habe ich bereits 1890 (p. 12) die Lage der Cyanophycinkörner festgestellt. Übrigens sind die obigen Zitate Kohls zum Teil unrichtig. Hinsichtlich der Anordnung der Cyanophycinkörner im peripheren Plasma bemerkt Kohl p. 38: „es ist gelegentlich hin und wieder einmal die von Bütschli charakterisierte Lagerung der Cyanophycinkörner (an den Querscheidewänden der Zellen) gesehen worden, und ohne daß man diesen Punkt genauer untersucht hat, ist dieser spezielle Fall verallgemeinert worden“. Kohl fand bei einer Reihe von Cyanophyceen „höchst selten die Querscheidewände (durch das Cyanophycin) bevorzugt“. Kohl befindet sich hier im Irrtum. Von einer allgemeinen Bevorzugung der Querwände hat niemand gesprochen. Nur spezielle Fälle, namentlich Oscillarien, sind angeführt worden.

Die von Kohl p. 38 zitierten Stellen bei Bütschli und Gomont¹⁾ beziehen sich auf Oscillarien. Die auf derselben Seite vorkommenden Zitate aus Palla's und meinen Arbeiten sind teilweise unrichtig und unvollständig. Unrichtig ist die Angabe, daß Palla „von solcher vorherrschenden Verteilung der Cyanophycinkörner nichts erwähnt“. P. 552 sagt Palla für *Lyngbya papyrina*: „Cyanophycinkörner finden sich wie bei den Oscillarien an den den Querwänden zugekehrten Seiten des Zentralkörpers vor“. Wenn Kohl dann des weiteren mitteilt, er habe unter meinen Abbildungen „vergeblich nach solchen gesucht, welche diese behauptete eigenartige Verteilung illustrieren“, so ist mir unverständlich, was er unter suchen versteht, denn 1890 und 1900 habe ich die fragliche Lagerung der Cyanophycinkörner mehrfach für Oscillarien beschrieben und abgebildet.

Von Macallum berichtet Kohl, er habe nur von peripherer Lage der Cyanophycinkörner in Lyngbyafäden gesprochen. Dies ist wieder unrichtig. Macallum²⁾ sagt: „In Oscillariae they (die Cyanophycinkörner) are placed in a row at each end of the cell and adjacent to the transverse walls“. Fig. 51 stellt das geschilderte Verhalten dar.

Unter Bezugnahme auf bestimmte Beobachtungen an *Oscillaria* und *Lyngbya* spricht Kohl auf Seite 98 von „dem Mythos von der reihenförmigen Anordnung der Cyanophycinkörner zu beiden Seiten der Quer-

¹⁾ Bütschli, weitere Ausführungen über den Bau der Cyanophyceen und Bakterien. Leipzig 1896, p. 32. Gomont, Monographie des Oscillariées. SA. p. 12 aus T. 15 und 16. 7. Ser. Ann. des Sciences nat. Bot.

²⁾ Macallum, on the distribution of assimilated iron compounds, vol. 38, part. 2. New. Ser. Quart. Journal for Micr. Science, p. 265. Vergl. auch: on the cytology of non nucleated organisms l. c. p. 21, 30 und Fig. 14, 3.

wand“. Kohl glaubt, dieser Mythos sei entstanden durch die Verwechslung von Cyanophycinkörnern mit punkt- und strichförmigen Gebilden, welche Kolkwitz¹⁾ bei lebender *Oscillaria maxima* dicht an den Querwänden gesehen hat. Kolkwitz meint, daß, wenn man bei Oscillarien von Tüpfeln oder Löchern reden wolle, diese Gebilde am ehesten dafür anzusprechen seien. Kohl hat entsprechendes bei nackten Oscillarien und bescheideten Lyngbyafäden gesehen. Er teilt dann des weiteren mit, daß ihm gegen die „regelmäßige Placierung“²⁾ der Cyanophycinkörner an den Querwänden namentlich zwei Beobachtungen mißtrauisch gemacht hätten. Erstens sähe man, wenn man die Zellen von der Querwand aus betrachte, nichts von einer bevorzugten Anlagerung der Cyanophycinkörner an diese. Demgegenüber mache ich auf die Figur 51 in der auch von Kohl in seinem Literaturverzeichnis zitierten Arbeit Macallums (on the Distribution etc. Plate 12) aufmerksam. Diese Figur zeigt „isolated cells as seen through their transverse walls“ von *Oscillaria* mit gefärbten Cyanophycinkörnern. Man muß daher Kohl beistimmen, wenn er fortfährt: „Ferner ist es auffallend, daß ich in Abbildungen nach gefärbten Präparaten nirgends die in Rede stehende Bevorzugung der Querwände zum Ausdruck gebracht finden konnte“. Besonders auffallend ist es, daß Kohl nicht aus den Figurenerklärungen der von ihm selbst aus meinen Arbeiten zitierten Figuren ersehen hat, daß es sich hier um gefärbte Körner handelte und sehr auffallend ist es ferner, daß er meinen Figuren 30—32, 1890 keine Beachtung geschenkt hat, und ebensowenig dem Text auf Seite 13, 15, 17 (1890) und 26 (1900), woselbst Reaktionen der an den Querwänden liegenden Körner mitgeteilt sind. Daß es sich hier um Cyanophycinkörner gehandelt hat, kann einem Zweifel nicht unterliegen.

Befremden muß Kohls Ausspruch auf Seite 37, demzufolge die Unterscheidungsmethoden von Zentral- und Cyanophycinkörnern „bisher noch nicht den wünschenswerten Grad von Sicherheit boten“. Wer diese Körner noch nicht nach den vor dem Erscheinen der Arbeit Kohls bekannten Methoden³⁾ sicher unterscheiden konnte, der war überhaupt nicht befähigt, mikroskopische Untersuchungen auszuführen.

1) Kolkwitz. Über die Krümmungen und den Membranbau bei einigen Spaltalgen. Berichte der deutsch. Botan. Gesellsch. 1897, p. 465.

2) Die geschmacklose Verwendung dieses ganz unnötigen Fremdwortes findet sich mehrfach a. a. O. Unerfreulich ist es auch, auf Seite 138 von *Nostoc*, *Anabaena* und „Konsorten“ zu lesen, oder auf Seite 150 von „malträtierten“ Zellen.

3) Hinsichtlich des Färbungsverfahrens für Cyanophycinkörner mit Essigkarmin ist auf meine Mitteilungen 1900, p. 26 zu verweisen. Kohl kennt dieselben offenbar nicht, da er sich (p. 41) lediglich auf eine frühere Angabe von mir bezieht: „Hier mag bemerkt werden, daß die Tinktion der Cyanophycinkörner nur bei Verwendung von stark verdünnter Essigsäure gelingt, wenn konzentrierte Essigsäure benutzt wird, quellen die Körner und färben sich schlecht“. (Bot. Ztg. 1892, No. 38.) 1900, p. 26 habe ich mit-

Eine eingehendere Erörterung verlangen die durch Kohl bestätigten Befunde Heglers¹⁾, welche die Löslichkeit der Cyanophycinkörner in Pepsin- und Pankreatinlösungen betreffen. Bezüglich der Wirkung von Pepsinsalzsäure bemerken Kohl und Hegler, daß verdünnte Salzsäure an sich die Körner nicht löse.²⁾ 1890, p. 43 hatte ich desgleichen für die Körner von *Oscillaria* angegeben, daß diese in 0,3 % Salzsäure sofort verquellen (der Versuch wurde bei Zimmertemperatur ausgeführt), jedoch wiedererkannt werden können, wenn die Fäden nach 24stündiger Säurewirkung in Alkohol gebracht werden. Durch Essigkarmin konnten die Körner nun aber nicht mehr gefärbt werden, während solches ohne Säurevorbehandlung leicht gelang.

Nach Hegler (p. 299) gelingt es nach der Behandlung der Cyanophycinkörner mit verdünnter Salzsäure leicht, dieselben durch Alkohol und Färbung mit Essigkarmin wieder zur Darstellung zu bringen. Hegler scheint die Salzsäurebehandlung vorzugsweise mit 0,05—0,1 % Lösungen vorgenommen zu haben, dann auch mit 0,3 %. Nähere Mitteilungen über die Temperatur der benutzten Lösungen fehlen, desgleichen über die Dauer der Säurebehandlung vor der Färbung mit Essigkarmin. P. 297 sagt Hegler allerdings: „Behufs Eintragung in Pepsinsalzsäure unterwarf ich Alkoholmaterial von *Anabaena torulosa* zuerst einer zwölfstündigen Behandlung mit 1 ‰ Salzsäure. Selbst nach mehrtägigem Stehen in 1 ‰ Salzsäure waren die Körner noch völlig erhalten und nur wenig gequollen“. Die auf diese Weise behandelten Fäden dienten jedoch zu Färbungen mit Hämatoxylin.

Nach Kohl lösen sich Cyanophycinkörner nicht in 1 ‰ (p. 47), 2 ‰ (p. 49), hingegen verursacht 3 ‰ Salzsäure starke Quellung und Substanzverlust (p. 47). Nähere Angaben über die Dauer der Einwirkung und die Temperatur der verwendeten Lösungen fehlen. Nur bezüglich

geteilt, daß Essigkarmin nach Schneider, bezogen von Merk in Darmstadt, sich sehr brauchbar erwiesen habe, um die Cyanophycinkörner intensiv gefärbt hervortreten zu lassen. In einer Anmerkung wird dann gesagt: „Wie der früher von mir verwendete, nur nach Verdünnung mit Wasser gut färbende Essigkarmin hergestellt worden war, vermag ich jetzt nicht mehr zu ermitteln“. Die in der vorliegenden Arbeit mitgeteilten Färbungsversuche sind stets mit Essigkarmin nach Schneider von Merk ausgeführt worden. Dieses Präparat wird so hergestellt, daß man so lange Karmin in kochende 45proz. Essigsäure einträgt, als sich Farbstoff löst. (Straßburger Praktikum 3. Aufl., 1897, p. 664.) Kohl empfiehlt (p. 41) 30—40 % Essigsäuregehalt, Hegler (p. 294) 20—30 %. — Unrichtig ist die Angabe Kohls (p. 47): „Mit Jodwasser oder Jodjodkalium färben sich die Cyanophycinkörner wenig (Zacharias u. a.), mit Jod + 1 % Schwefelsäure tief braun“. Lediglich die letztere Färbung habe ich 1890 angegeben, nicht aber eine solche mit Jodwasser oder Jodjodkalium (vergl. auch 1900, p. 27).

¹⁾ Vergl. meine Besprechung. Bot. Ztg. 1901, p. 324.

²⁾ Nach Macallum *Cytology* etc., l. c. p. 31, lösen sich die Cyanophycinkörner rasch in 0,5 ‰ Salzsäure.

des zu Färbungsversuchen mit Hämatoxylin verwendeten Materials wird angegeben, dasselbe habe zwei Tage in 1‰ Salzsäure gelegen (p. 45). Eine Färbung der Cyanophycinkörner konnte Kohl dann aber im Gegensatz zu Hegler nicht erzielen.

Für seine Verdauungsversuche verwendete Hegler (p. 301) Alkoholmaterial von *Anabaena tornosa*, welches in Wasser übertragen und mit 0,05 % oder 0,1 % Salzsäure entkalkt worden war. Die Verdauung erfolgte in einer Lösung von 0,1 % Pepsin, dem 0,05—0,1 % Salzsäure zugefügt war, bei 39°—40° C. „Nach 12 Stunden war kein einziges Cyanophycinkorn mehr vorhanden, auch waren Reste derselben weder durch Hämatoxylin noch durch Essigkarmin nachzuweisen“.

Kohl (p. 48) hat die Versuche Heglers mit „Pepsinlösung (0,1 Pepsin + 0,1 Salzsäure)“ wiederholt. Dabei verschwanden die Cyanophycinkörner allmählich „die Tinktionen traten immer schwächer ein, bis endlich auch mit dem Mikroskop (sic!) nichts mehr von diesen Granulationen zu entdecken war“.

Soll bewiesen werden, daß bei dem Hegler-Kohlschen Verdauungsverfahren die Säure allein nicht schon zur Lösung der Cyanophycinkörner (für den Fall, daß eine solche tatsächlich erreicht wurde) genügte, so muß nach obigem gezeigt werden, daß die Körner sich bei zwölfstündiger Behandlung mit 0,05—0,1 % Salzsäure bei 39°—40° C. nicht lösen. Daß Hegler und Kohl dieses nachgewiesen haben, ist aus ihren Angaben nicht zu entnehmen.

Ich konnte hier folgendes ermitteln: Wurden cyanophycinreiche Nostockolonien frisch auf 24 Stunden bei Zimmertemperatur in 1‰ Salzsäure eingelegt und darauf mit Essigkarmin behandelt, so färbten sich die Cyanophycinkörner gut. Ebenso färbten sich die Körner von *Oscillaria* (Alkoholmaterial) nach kurzer Behandlung mit 1‰ Salzsäure auf dem Objektträger und darauf folgender Abspülung mit absolutem Alkohol gut auf Zusatz von Essigkarmin. Eine Probe desselben Oscillarienmaterials wurde in 1‰ Salzsäure eingetragen, die Flüssigkeit nach einiger Zeit erneuert und dann, nachdem sie 48 Stunden bei Zimmertemperatur eingewirkt hatte, durch absoluten Alkohol ersetzt. 24 Stunden später traten dann auf Zusatz von Essigkarmin die Körner scharf hervor, allerdings minder intensiv gefärbt als in den Zellen des nicht mit Salzsäure behandelten Ausgangsmaterials. Abweichend waren die Ergebnisse, sobald die Körner in der Wärme mit Salzsäure behandelt worden waren; mehrfach modifizierte Versuche verliefen wie folgt:

1) Nostocfäden, welche durchweg sehr reich an zum Teil großen Cyanophycinkörnern waren, gelangten frisch in 1‰ Salzsäure und wurden dann 9½ Stunden auf 39—39,4° C. erwärmt. Nachdem sie darauf noch 12 Stunden bei Zimmertemperatur in der Säure gelegen hatten, wurden sie

in absoluten Alkohol eingetragen. Eine Färbung von Körnern durch Essigkarmin wurde nunmehr nicht beobachtet, indessen konnten bei der Untersuchung in Alkohol in vielen Fäden unregelmäßig gestaltete Körper im peripheren Plasma erkannt werden, welche auf erneuten Zusatz von 1 ‰ Salzsäure verschwanden. Methylenblau färbte die Körper nicht.¹⁾

2) Nostocfäden, welche sehr reich an großen Cyanophycinkörnern waren, gelangten frisch in 1 ‰ Salzsäure. Nachdem sie in dieser 24 Stunden bei Zimmertemperatur gelegen hatten, wurde die Flüssigkeit erneuert, und nun 12 Stunden auf 38,7—39,5 ° C. erwärmt. Nach weiterem 36 stündigem Liegen in der Säure bei Zimmertemperatur wurde die Säure durch absoluten Alkohol ersetzt. 24 Stunden später wurden die Nostocfäden in Alkohol untersucht. In dem nicht kontrahierten peripheren Plasma fanden sich glänzende Körner, welche auf Zusatz von Wasser verschwanden. Essigkarmin machte zunächst die Körner nicht wieder sichtbar, nach längerer Einwirkung traten sie aber hier und da gefärbt wieder hervor. Nach 24 Stunden war eine Überfärbung der Zellinhalte eingetreten. Bei langsamem Auswaschen mit Essigsäure wurden dann aber im peripheren Plasma wieder gefärbte Körner sichtbar, welche ihrer Gestalt und Lagerung zufolge für Cyanophycinkörner gehalten werden konnten.

3) Sehr cyanophycinreiches Nostocmaterial wurde aus Alkohol auf eine Stunde in 1 ‰ Salzsäure eingelegt, und dann nach Erneuerung der Salzsäure 12 Stunden auf 39—39½ ° C. erwärmt. Nach weiteren 8 Stunden, während welcher Zeit die Temperatur auf 28 ° C. sank, wurden die Algen in absoluten Alkohol übertragen und 24 Stunden später in Alkohol untersucht. Der Zellinhalt hatte ein fein granuliertes Aussehen, man erkannte darin den Umriß der Cyanophycinkörner, es blieb aber die Annahme möglich, daß es sich hier um entsprechend gestaltete Hohlräume im Plasma handle. Zusatz von Wasser veranlaßte etwas Quellung, ohne indessen das Bild wesentlich zu ändern. Essigkarmin erzielte nach etwa ½ stündiger Einwirkung hier und da eine undeutliche Färbung von Körnern; nach 24 stündiger Einwirkung war der ganze Zellinhalt stark gefärbt, von Körnern nichts zu erkennen, als nun aber mit Essigsäure ausgewaschen wurde, traten die Cyanophycinkörner, deutlich gefärbt, hervor.

4) wurde eine lebende Nostockugel halbiert. Die eine Hälfte wurde in absoluten Alkohol eingelegt und nach einigen Tagen in Wasser untersucht. Cyanophycinkörner waren sofort scharf zu erkennen. Nach 48 stündiger Alkoholbehandlung färbten sich die überall reichlich vor-

¹⁾ Auch die hier vorhandenen großen Zentralkörner blieben ungefärbt, oder färbten sich doch keinesfalls stärker als der Zentralkörper, während in nicht mit Salzsäure behandeltem Nostocalkoholmaterial gleicher Herkunft auf Zusatz von Methylenblau sofort die übliche tiefe Färbung der Zentralkörner eintrat.

handenen Körner mit Essigkarmin-Schneider sofort. Auch eine Lösung von 1 vol. Essigkarmin-Schneider + 1 vol. Wasser färbte nach mehrtägiger Alkoholbehandlung die Körner sehr schön. Die zweite Hälfte der Nostockugel wurde 48 Stunden bei 22—28° R. mit 0,28 % Salzsäure behandelt, dann in absoluten Alkohol eingetragen. Nach kurzer Zeit wurde eine Probe in Essigkarmin-Schneider gebracht. Eine Färbung trat nicht ein. Auch nach mehrtägigem Verweilen der Algen in absolutem Alkohol erfolgte keine Färbung in der verdünnteren Essigkarminlösung, in welcher bei gleichartiger Behandlung in den lediglich mit Alkohol behandelten Algen die Körner schön gefärbt wurden.

5) Cyanophycinreiche Gonidien von *Peltigera canina* (Alkoholmaterial), deren Körner in Essigkarmin-Schneider intensiv gefärbt wurden, zeigten nach 24 stündiger Einwirkung von 1 ‰ Salzsäure bei 35—40° C. und darauf folgender Übertragung in Alkohol auch nach 24 stündigem Liegen in Essigkarmin-Schneider keine Körnerfärbung.

6) *Oscillaria* (Alkoholmaterial) gelangte in 1 ‰ Salzsäure, nach einer Stunde wurde die Lösung erneuert, dann 16 Stunden auf 39—40° C. erwärmt und nun in absoluten Alkohol eingetragen. Eine andere Probe wurde 32 Stunden in 1 ‰ Salzsäure auf 37—40° C. erwärmt und dann in Alkohol eingetragen. In beiden Fällen erzielte Essigkarmin-Schneider auch nach 24 stündiger Einwirkung keine Körnerfärbung. Indessen schienen bei der Untersuchung in Alkohol in manchen Fällen Körner vorhanden zu sein. Die Körner des nicht mit Säure behandelten Alkoholmaterials färbten sich in Jodjodkalium und Schwefelsäure (1 vol. Schwefelsäure + 100 vol. Wasser) schön braun. Nach 32 stündiger Erwärmung des Alkoholmaterials mit 1 ‰ Salzsäure auf 30—40° C. und darauf folgender Behandlung mit absolutem Alkohol ließ sich aber keine Körnerfärbung durch Jodjodkalium und Schwefelsäure mehr erzielen, hier und da schienen allerdings unscharf kontourierte Körner vorhanden zu sein.

Es ergibt sich also, daß die Cyanophycinkörner, wenn sie bei Zimmertemperatur mit 1 ‰ Salzsäure 24 bis 48 Stunden behandelt werden, nicht gelöst werden, während sie in der Wärme jedenfalls eine Veränderung erfahren. Für bestimmte Fälle gelang es jedoch zu zeigen, daß hier eine Lösung der Cyanophycinkörner nicht erfolgt.

Verdauungsversuche führte ich aus unter Benutzung des von Hegler (p. 301) als außerordentlich wirksam empfohlenen Pepsinpräparates (1:3000 trocken Eiweiß) aus der chemischen Fabrik von Dr. Chr. Brunnengräber in Rostock. Zum Vergleich dieses Präparates mit dem bei früheren Untersuchungen von mir mehrfach benutzten Glycerinextrakt aus Schweinemagen wurden mit folgenden Lösungen Versuche angestellt:

- 1) 1 vol. Glycerinextrakt aus Schweinemagen + 3 vol. Salzsäure 3 ‰.
- 2) 100 ccm Salzsäure 2 ‰ + 0,1 g Pepsin-Brunnengräber.

In annähernd gleiche Mengen dieser Lösungen wurden annähernd gleiche Mengen Hühnereiweiß eingetragen.¹⁾ Nach 24 stündigem Stehen bei Zimmertemperatur war in der Lösung 1 keine wesentliche Verminderung des Eiweißes eingetreten, in Lösung 2 war es bis auf geringe Reste verschwunden. Nun gelangte das Gefäß mit Lösung 1 in einen auf 20° R. erwärmten Raum, desgleichen wurden hier aufgestellt zwei Gefäße mit Lösung 2, von welchen das eine mit Hühnereiweiß, das andere mit Lachssperma (Alkoholmaterial) beschickt worden war. Nach 24 Stunden waren die Eiweißproben gelöst, das Lachssperma war anscheinend unverändert. Mikroskopische Untersuchung zeigte die Spermaköpfe in der früher mehrfach von mir beschriebenen Beschaffenheit.²⁾

Ferner wurde Hühnereiweiß (präpariert wie unten angegeben, aber nach dem Auswaschen mit Wasser in 90 % Alkohol aufbewahrt) in eine der von Hegler verwendeten entsprechende Verdauungsflüssigkeit (100 ccm 1 ‰ Salzsäure . 0,1 g Pepsin von Brunnengraber) eingetragen, nachdem es vorher auf 3 Stunden in 1 ‰ Salzsäure gelangt war. Nach gleichartiger Behandlung mit Salzsäure gelangte frische Epidermis des Blattes von *Arum italicum* in die Verdauungsflüssigkeit. Es wurde nun nach mehrstündigem Stehen bei Zimmertemperatur 12 Stunden auf 39—40° C. erwärmt. Das Eiweiß wurde gelöst, während Kern und Plasmareste der Arumepidermis (auch in den zerrissenen Zellen) nach der Verdauung dieselbe Beschaffenheit darboten, wie nach meinen früheren Verdauungsversuchen (l. c. p. 191).

Nach diesen Vorprüfungen wurden Versuche mit Nostockolonien vorgenommen, welche sehr reich an großen Cyanophycinkörnern waren. Diese färbten sich nach Alkoholextraktion in üblicher Weise mit Essigkarmin. Nostoc und Hühnereiweiß gelangten zunächst bei Zimmertemperatur auf 24 Stunden in Gefäße mit 1 ‰ Salzsäure. Dann wurde die Salzsäure abgegossen und durch Verdauungsflüssigkeit der letztbeschriebenen Art ersetzt. Die Gefäße wurden nun 12 Stunden auf 39—40° C. erwärmt. Das Eiweiß löste sich. Die Algen gelangten, nachdem sie noch zwei Tage bei Zimmertemperatur in der Verdauungsflüssigkeit gestanden hatten, in absoluten Alkohol. Als sie 24 Stunden später in Alkohol untersucht wurden, waren die Zellinhalte stark geschrumpft und glänzend, so daß nicht mit Sicherheit entschieden werden konnte, ob Cyanophycinkörner vorhanden seien. Hier und da glaubte

¹⁾ Das Hühnereiweiß war auf die von E. Schmidt (Ausführliches Lehrbuch der pharmazeutischen Chemie, Bd. 2, 1896, p. 1651) angegebene Art präpariert worden, darauf mit destilliertem Wasser bis zum Verschwinden der alkalischen Reaktion ausgewaschen und schließlich auf 24 Stunden in 3 ‰ Salzsäure eingelegt.

²⁾ E. Zacharias über Nachweis und Vorkommen von Nuclein. Berichte der deutschen Botan. Gesellsch., 1898, Heft 7.

ich solche zu erkennen. Auf Zusatz von Wasser quoll der ganze Zellinhalt stark auf, große Zentralkörner traten sehr scharf, glänzend hervor, Cyanophycinkörner waren nicht zu erkennen. Auf Zusatz von Essigkarmin traten nach einiger Zeit in manchen Zellreihen gut gefärbte Körner hervor, welche allerdings den Cyanophycinkörnern des nicht verdauten Alkoholmaterials gegenüber substanzärmer zu sein schienen. Daß diese Körner Cyanophycinkörner waren, erschien nicht ganz sicher.

Für einen weiteren Verdauungsversuch wurde dasselbe Nostocmaterial verwendet, welchem die Algen für den Salzsäureversuch 3 (Seite 62) entnommen worden waren, auch erfolgte die Vorbehandlung und Erwärmung des Materiales durchaus wie bei dem letzteren Versuch. Nachdem die mit der Verdauungsflüssigkeit behandelten Algen 24 Stunden in absolutem Alkohol gelegen hatten, wurden sie in diesem untersucht: Der ganze Zellinhalt hatte ein glänzendes Aussehen erhalten, Cyanophycinkörner schienen vorhanden zu sein, konnten aber nicht sicher erkannt werden. Auf Zusatz von destilliertem Wasser trat eine Quellung des Zellinhaltes ein, blasse, nicht scharf umschriebene Gebilde, welche für veränderte Cyanophycinkörner gehalten werden konnten, waren sichtbar. Auf Zusatz von Essigkarmin trat nach kürzerer Einwirkung des Farbstoffes keine Färbung ein, während sich im Ausgangsmaterial nach der Übertragung aus Alkohol in Essigkarmin die Cyanophycinkörner sofort färbten. Nach dreistündiger Einwirkung des Farbstoffes auf die mit Pepsinlösung behandelten Algen waren in einer Anzahl von Zellreihen schwach gefärbte Körner zu erkennen, welche nach Gestalt und Lagerung für Cyanophycinkörner gehalten werden mußten, nach 24 Stunden waren sie gut und deutlich gefärbt. Die gefärbten Körner entsprachen nun hinsichtlich ihrer Anzahl und Lagerung den Cyanophycinkörnern des Ausgangsmateriales. Ihre Färbung hatte allerdings nicht die Intensität, welche von nicht mit Verdauungsflüssigkeit behandelten Cyanophycinkörnern schon nach kurzer Essigkarminwirkung erreicht wird, auch schien ein gewisser Substanzverlust durch die Verdauung herbeigeführt worden zu sein.

Aus den mitgeteilten Versuchen ergibt sich, daß eine Verschiedenheit im Verhalten der Cyanophycinkörner gegen verdünnte Salzsäure und Verdauungsflüssigkeit in der Art, wie sie von Hegler und Kohl angenommen worden ist, tatsächlich nicht nachgewiesen ist.

Übrigens bleibt aber zu untersuchen inwieweit etwa die Pepsinwirkung auf den Inhalt der Cyanophyceenzelle durch die Membranen derselben eine Beeinträchtigung erfährt.

Hegler und Kohl bezeichnen die Cyanophycinkörner als Eiweißkristalloide. Man sucht zunächst vergeblich nach einer stichhaltigen Begründung für die Auffassung der Körner als „Kristalloide“. Selbst wenn man es als erwiesen ansehen wollte, daß die fraglichen Gebilde

aus Eiweißstoffen bestehen, ist doch damit ihre Kristalloidnatur noch nicht dargetan. Hegler bemerkt in dieser Hinsicht p. 294, daß die Körner nach der Fixierung durch Sublimat, Färbung mit Essigkarmin und Übertragung in Damarlack „Gebilde mit meist scharf begrenzten Ecken und Kanten darstellen“. Besonders große und wohlausgebildete Kristalloide sollen in den Heterocysten an den beiden Porenkanälen sitzen. Es wird dabei auf die „scharfe polyedrische Begrenzung der großen Cyanophycinkristalloide in den Heterocysten“ besonders hingewiesen, welche auf der beigegebenen Photographie 1 sehr deutlich hervortreten soll. Tatsächlich ist auf dieser Photographie von solcher Begrenzung aber nichts zu sehen.

Kohl nennt die Körper in den Heterocysten, welche Hegler als große Cyanophycinkristalloide bezeichnet, „Verschlußkörper“ und faßt die Resultate seiner Untersuchung dieser Körper p. 113 in die Worte zusammen: „die Cyanophycinkörper sind Eiweißkristalloide, während die Verschlußkörper, welche übrigens niemals, wie Hegler behauptet, Ecken und Kanten im Sinne der Kristallformen haben, denn sie sind zähflüssig, substantiell der Kallosa nahe kommen“. Die Gestalt der Cyanophycinkörner beschreibt Kohl p. 39 wie folgt: „Sie sind Gebilde von Kugelgestalt, oder ihre Form ist unregelmäßig, sie besitzen Plattenform mit abgerundeten Ecken und Kanten. Eine scharfe, polyedrische Begrenzung auch der großen Kristalloide, von der Hegler gelegentlich spricht, und die wir bei den Proteinkristalloiden der Kerne und Aleuronkörner, bei den Pyrenoiden und den im Cytoplasma schwimmenden Proteinkristalloiden der Kartoffelknolle und in der Epidermis mancher Farne kennen, habe ich bei den Cyanophycinkörnern niemals beobachtet“.

Bei der Untersuchung des optischen Verhaltens der Cyanophycinkörner fand Hegler (p. 303) dieselben in einer Reihe von Fällen „optisch inaktiv“, in anderen schwach doppelbrechend. Kohl (p. 49) fand in verschiedenen Fällen „keine Spur von Doppelbrechung“.

Es ist unverständlich, wie Kohl auf Grund der vorliegenden Beobachtungen zu behaupten vermag, die Cyanophycinkörner seien Kristalloide.

Für die Eiweißnatur der Körner sprechen nach Hegler und Kohl namentlich die Verdauungsversuche. Das ist jedoch nach meinen weiter oben mitgeteilten Befunden für Versuche mit Pepsinlösungen nicht der Fall. Ferner wird angeführt das Speicherungsvermögen der Cyanophycinkörner für Jod und verschiedene Farbstoffe. Hinsichtlich des Jod ist aber hervorzuheben, daß die Speicherung desselben nach meinen, auch von Hegler und Kohl bestätigten Angaben nur bei der Einwirkung von Schwefelsäure beobachtet worden ist, ein Umstand, welcher nicht charakteristisch für Eiweißstoffe genannt werden kann. Endlich bemerkt

Kohl (p. 49), daß die Cyanophycinkörner einzelne Eiweißreaktionen¹⁾ geben, über welche auch schon Hegler berichtet hat, während andere Reaktionen nicht eintreten. Will man sich an beobachtete Tatsachen halten, so wird man jedenfalls nicht behaupten können, es sei festgestellt, daß die Cyanophycinkörner aus Eiweißstoffen bestehen, wenn auch die Möglichkeit, daß dem so sei, nicht in Abrede zu stellen ist.

Glykogen. Daß in Cyanophyceenzellen eine Substanz vorkommt, welche sich gegen Jodpräparate wie Glykogen verhält, haben (entsprechend früheren Beobachtungen) auch Massart, Hegler²⁾ und Kohl gefunden. Massart bemerkt p. 17: „Cette substance est très abondante chez certaines espèces, en particulier dans le corps central. Ailleurs, le glykogène est répandu irrégulièrement dans tout le protoplasme, par exemple dans le *Phormidium autumnale*“. Kohl fand jedoch Glykogenreaktion nur im peripheren Plasma. Er kann daher Massart „nicht beistimmen“, und meint dann weiter p. 85: „Übrigens hat auch Zacharias nur in einem vereinzeltten Falle in in Kultur genommenen *Peltigeragonidien* eine schöne rotbraune Färbung der Zentralkörper erhalten“. Ich habe jedoch bei der Untersuchung verschiedener Cyanophyceen (1900, p. 17—19, 44) die Glykogenreaktion bald gar nicht, bald im Zentralkörper oder im peripheren Plasma beobachten können.

Im Dezember 1902 fand ich in Anabaenen, welche in einer Charenkultur des hiesigen Victorienhauses sich in anscheinend guter Vegetation befanden, keine Spnr von Glykogenreaktion in den Fadenzellen und Heterocysten. Die Prüfung erfolgte unter Verwendung von Alkoholmaterial mit der Jodjodkaliumlösung Erreras. In den Zentralkörpern der Sporen trat in manchen Fällen typische Glykogenfärbung auf, in anderen Fällen war die Färbung hier jedoch nur gering oder zweifelhaft.³⁾ Das periphere Plasma der Sporen war vollgepfropft von großen Cyanophycinkörnern.

Die Feststellung der Bedingungen, welche für den Gehalt der Zellen an Cyanophycin, Zentralsubstanz und Glykogen maßgebend sind, ist bereits von verschiedenen Seiten versucht worden.⁴⁾

¹⁾ Bezüglich der Blutlaugensalzreaktion vergl.: E. Zacharias. Über Eiweiß, Nuclein und Platin. Bot. Ztg. 1883, p. 212.

²⁾ Vergl. meine Besprechung der Arbeit Heglers in Bot. Ztg. 1901, p. 323.

³⁾ Der Ausspruch Clautriau's (*Les réserves hydrocarbonées des Thallophytes. Miscellanées biologiques dédiée au Prof. Giard à l'occasion du XXV. anniversaire de la fondation de la station zoologique de Wimereux. Paris 1899, p. 117*) „leurs (bezieht sich auf die Cyanophycinkörner) accumulation est toujours accompagnée, en outre, d'un dépôt considérable de la substance brunissant par l'iode“ bedarf hinsichtlich seiner Berechtigung noch weiterer Prüfung.

⁴⁾ Vergl. E. Zacharias l. c. 1900, p. 35 und die hier zitierte Literatur.

Kohl behauptet p. 31, daß verschiedene Cyanophyceen sich unter gleichen Bedingungen bezüglich der Menge und Größe von Cyanophycin- und Zentralkörnern verschieden verhalten, während ungleiche äußere Bedingungen Verschiedenheiten in verschiedenen Kulturen derselben Art hervorrufen können. Indessen betont Kohl bezüglich der Zentralkörner (p. 33), daß „die Fäden ein und desselben Rasens die Granulationen in den verschiedensten Mengen enthalten“.

Es ist ja wohl möglich, daß die Durchschnittsgröße und Menge der Körner bei verschiedenen Cyanophyceen unter gleichen Bedingungen verschieden ist. Es fehlt hier aber bisher an hinreichenden Feststellungen.¹⁾ Kohl nimmt allerdings an, daß seine Versuchsalgen unter vollkommen gleichen Verhältnissen gewachsen seien. Wenn nun auch Licht, Temperatur und Wasserversorgung der Kulturgefäße, wie Kohl angibt, gleichartig waren, so können sich dennoch die Bedingungen in verschiedenen, mit größeren Algenmengen gefüllten Gefäßen recht verschiedenartig gestalten. Kohl teilt mit, daß *Tolypothrix* untergetaucht vegetierte, während *Nostoc* und *Anabaena* in verschiedener Weise Algendecken aufsaßen. Wie wenig gleichgültig derartige Verschiedenheiten für die Körnerbildung sind, zeigte eine von mir weiter unten zu beschreibende *Nostoc*-kultur. In der Nährflüssigkeit schwimmende Kolonien enthielten sehr kleine Cyanophycinkörnchen, während an der Gefäßwand über dem Flüssigkeitsspiegel sitzende Kolonien durchweg sehr reich an großen Körnern waren. Überhaupt können die Verschiedenheiten im Gehalt an Granulationen in Fäden derselben Kultur, sogar in benachbarten Zellen desselben Fadens, die denkbar größten sein. Das von Kohl auf Seite 37 mitgeteilte „vorläufige Bild über die Verteilung der beiderlei Granulationsformen in der Cyanophyceenzelle“, welches eine Übersicht über ein differentes Verhalten einer ganzen Reihe von Cyanophyceen enthält, ist belanglos, da der Leser nicht zu beurteilen vermag, welcher Art die Bedingungen waren, unter denen die Algen gelebt hatten, und inwieweit die aufgezählten Arten unter gleichartigen oder verschiedenen Bedingungen vegetiert hatten, als sie untersucht wurden. Hinsichtlich der Beziehungen des Gehaltes der Zellen an Cyanophycin- und Zentralkörnern zum Wachstum und zur Teilung der Zellen ist Kohl der Meinung, daß beide Körnerarten bei besonders energischem Wachstum fehlen (p. 29): „Es macht hiernach den Eindruck, als ob bei ganz besonders lebhaftem Wachstum und reger Zellteilung ein Verbrauch der Zentralkörner stattfindet oder als ob es nicht zu einer Produktion derselben komme“. „Nur wenn das Wachstum der Zellen eine gewisse Intensität überschreitet, scheint der Konsum an Zentralkörnersubstanz so groß zu sein, daß letztere verschwindet“.

¹⁾ Vergl. E. Zacharias, 1900, p. 44.

Sowohl Zentralkörner wie Cyanophycin (p. 32) kommen bei intensivem Wachstum „nicht, oder nur spärlich zur Deposition“. „In demselben Tempo, wie sie erzeugt werden, verfallen sie wieder dem Stoffwechsel“. Umgekehrt liegen die Dinge bei mangelhaftem Wachstum.¹⁾ Jedoch scheint Kohl (p. 37) zwischen den beiden Körnerarten „eine Art Antagonismus zu bestehen“, selten sind beide in ungefähr gleichen Mengen vorhanden, meist dominiert die eine oder die andere.

Es mag an dieser Stelle über einige auf das Vorstehende bezügliche Beobachtungen berichtet werden, welche ich in den beiden letzten Jahren anstellen konnte.

Als Ausgangsmaterial diente zunächst eine alte Algenkultur, welche in einer Kristallisierschale mit Leitungswasser mehrere Jahre lang am Nordfenster des Arbeitszimmers gestanden hatte. Das Wasser war erfüllt von einem Fadenfilz aus Oedogonien und verschiedenartigen Cyanophyceen. Erstere waren bei der Untersuchung am 5./III. 1903 ungemein reich an Stärke, letztere enthielten viel Cyanophycin. Oberhalb des Wasserspiegels saßen an der dem Fenster zugekehrten Wandung der Kristallisierschale viele kleine Nostockolonien. Die Nostocfäden waren zum Teil abgestorben, sowohl die lebenden Zellen als auch die abgestorbenen mit farblosem, zusammengeschrumpftem Inhalt waren durchweg reich an großen Cyanophycinkörnern. Fig. 1 stellt die lebenden Zellen nach Extraktion mit Alkohol und Färbung mit Essigkarmin dar, bei a eine in Teilung begriffene Zelle. Methylenblau färbte in Alkoholmaterial die Zentralkörper schwach, Zentralkörner wurden nicht sichtbar. Auch nach 24stündiger Einwirkung der Farblösung war eine Veränderung des Bildes nicht eingetreten. Jodjodkali färbte in demselben Alkoholmaterial das periphere Plasma kastanienbraun, der Zentralkörper blieb hell. Am 6./III. gelangten einige der cyanophycinreichen kleinen Nostockolonien in eine Petrischale, deren Boden mit Knopscher Nährlösung²⁾ bedeckt war. Als diese am 11./IV. fast eingetrocknet war, wurde sie unter Zusatz von 1‰ Traubenzucker erneuert³⁾. Bei der Untersuchung am 13./V. reagierte die Flüssigkeit alkalisch, zwischen den abgestorbenen Zellen der Nostockolonien fanden sich Fadenconvolute, welche im Wachstum begriffen zu sein schienen. Teilungszustände waren verbreitet (Fig. 2 bei t). Die Figur stellt lebende Zellen dar. Cyanophycinkörner wurden in denselben nicht erkannt, der

¹⁾ Vergl. auch p. 36, 51. In ähnlichem Sinne hatte sich schon Hegler (l. c. p. 304) ausgesprochen.

²⁾ Die Lösung enthielt in 1000 ccm Wasser: 1,0 g $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, 0,25 KNO_3 , 0,25 KH_2PO_4 , 0,25 MgSO_4 krist., ferner eine Spur Eisenchlorid; sie reagierte schwach sauer (vergl. Knop, Kreislauf des Stoffs. Leipzig 1868. p. 606).

³⁾ Vergl. Artari. Zur Ernährungsphysiologie der grünen Algen. Berichte der Deutschen botan. Gesellsch. 1901.

Zentralkörper enthielt sehr große Zentralkörner, außerdem kleine glänzende Körnchen. Fig. 3 zeigt eine in Teilung begriffene Zelle, lebend mit Methylenblau gefärbt, mit zwei großen gefärbten Zentralkörnern.¹⁾ — Ein zweiter Versuch verlief wie folgt:

Am 7./III. wurden der beschriebenen alten Zimmerkultur von der dem Fenster zugekehrten Wandung der Kristallisierschale einige Nostoc-kugeln entnommen. Sie enthielten, insoweit es ohne Schädigung festgestellt werden konnte, neben abgestorbenen Zellen nur cyanophycinreiche lebende Zellen und gelangten in kleinen Petrischalen, deren Boden mit Nährlösung bedeckt war, vor Verdunstung geschützt, an ein Nordfenster des Arbeitszimmers. Am 11./IV. waren in 2 mit Knopscher Lösung beschickten Schalen keine lebenden Zellen mehr vorhanden. Anders verhielten sich zwei Schalen, in welchen die Knopsche Lösung einen Zusatz von 1⁰/₀₀ Traubenzucker erhalten hatte.²⁾ Nachdem hier die Nährlösung am 11./IV. erneuert worden war, wurde die eine Schale am 27./IV. untersucht. Nur wenige Fadenknäuel waren am Leben. Ihre Zellen enthielten meist kein Cyanophycin, oder nur wenige kleine Körnchen, seltener waren cyanophycinreiche Zellen, hingegen war der Reichtum an Zentralkörnern beträchtlich, zum Teil enthielten die Zellen einzelne mächtige Körner (Fig. 6).³⁾ Die zweite Schale wurde am 12./V. untersucht. Sie enthielt eine kleinere und eine größere Nostockugel. In der ersteren hatten sich zwischen den abgestorbenen Fäden aus den überlebenden neue Convolute gebildet, welche viele Teilungszustände enthielten. Auffallend war das ausnahmslose Vorhandensein riesiger Zentralkörner. Meist enthielten die Zellen je ein Korn, zuweilen fanden sich jedoch auch mehrere Körner in einer Zelle. Die Prüfung mit Essigkarmin nach der Extraktion mit Alkohol ergab, daß die meisten Zellen cyanophycinfrei waren. Nicht selten fanden sich aber Zellen oder Zellreihen, welche sehr kleine Cyanophycinkörner in wechselnder Anzahl enthielten (Fig. 7). Größere Cyanophycinkörner, wie sie dem Ausgangsmaterial eigentümlich waren, kamen nicht vor. Solche größeren Körner konnte man aber noch hier

¹⁾ Hinsichtlich dieser großen Zentralkörner vergl. E. Zacharias l. c. 1900, p. 27. Diese Körner scheint schon Nägeli beobachtet zu haben (Zellenkerne, Zellenbildung und Zellenwachstum bei den Pflanzen. Zeitschr. für wiss. Bot. von Schleiden und Nägeli, 1. Bd., 1. Heft, 1844, p. 42).

²⁾ Einige weitere Erfahrungen deuteten in gleicher Weise darauf hin, daß vielleicht ein Zusatz von Traubenzucker die Entwicklung von Nostoc in Nährlösungen günstig zu beeinflussen vermag. Möglicherweise ist hier die Bakterienentwicklung von Bedeutung. Eine weitere Behandlung dieser Frage sowie der einschlägigen Literatur wird hier nicht beabsichtigt.

³⁾ Welche Dimensionen die Zentralkörner unter Umständen in Nostoczellen erreichen können, zeigt auch die auf eine andere Kultur bezügliche Fig. 38. (Vergl. die Figurenerklärung.)

und da in den collabierten, abgestorbenen Zellen erkennen. In der größeren Nostockugel fanden sich zwischen abgestorbenen Zellreihen größere und kleinere, lebende, junge Nostockolonien. Nach Extraktion mit Alkohol und Färbung mit Essigkarmin ließ sich in den abgestorbenen Zellen überall Cyanophycin nachweisen. In den lebenden Kolonien, in welchen Teilungszustände häufig waren, fehlte Cyanophycin meist vollständig, nicht selten fanden sich sehr kleine Körnchen in größerer oder geringerer Anzahl, größere Körner waren selten. Große Zentralkörner waren stets vorhanden. An den Enden lebender Zellreihen, welche farblose Zentralkörner, aber kein Cyanophycin enthielten, wurden häufig einzelne abgestorbene Zellen mit zahlreichen, durch das Essigkarmin schön gefärbten Cyanophycinkörnern beobachtet. (Fig. 8, 9.)

Die Algenkultur, welche das Ausgangsmaterial zu obigen Versuchen geliefert hatte, war inzwischen an ihrem Platze verblieben. Am 15./V. wurden derselben abermals einige, an der Fensterseite der Kristallisierschalenwandung ansitzende Nostockugeln entnommen. In einer dieser Kugeln fanden sich zwischen lebenden Fadenstücken Reste von abgestorbenen Fäden. Die lebenden Zellen waren cyanophycinreich, ihr Zentralkörper fein granuliert (Fig. 4). Teilungszustände waren vorhanden. In einer anderen Kolonie fanden sich zwischen vielen abgestorbenen Fäden, welche noch großen Cyanophycinreichtum erkennen ließen, kurze lebende Fadenstücke mit Teilungszuständen ohne Cyanophycin (die Zentralkörper fein granuliert, Zentralkörner nicht kenntlich), während andere lebende Zellreihen große Cyanophycinkörner in Mehrzahl in jeder Zelle, wieder andere kleine Körner in wechselnder Menge enthielten. Durch Färbung mit Methylenblau nach Alkoholextraktion ließen sich in dem himmelblau gefärbten Zentralkörper nur hier und da minimale Zentralkörnchen erkennen, meist fehlten sie. Fig. 5 stellt einen cyanophycinreichen Teilungszustand dar.

Die mitgeteilten Beobachtungen gestatten zwar in betreff des Verbranches der Cyanophycinkörner schon gewisse Annahmen, die aber den hinreichenden Grad von Sicherheit deshalb nicht haben, weil die in den Petrischalen kultivierten Nostockolonien vor dem Beginn der Kultur nicht bis auf jede einzelne Zelle untersucht werden konnten.

Um das Verhalten einzelner Zellen verfolgen zu können, wurden nimmehr Hängetropfenkulturen in Knopscher Nährlösung herangezogen. Als Untersuchungsmaterial dienten Gonidienkulturen von *Peltigera canina*. Die Hängetropfenkulturen standen am Nordfenster des Arbeitszimmers. In der Zeit vom Ansetzen einer Kultur am 28./VII. bis zum 7./VIII. wurden an einer bestimmten cyanophycinreichen Zellreihe eines längeren Fadens keinerlei Veränderungen beobachtet. Am 11./VIII. hatte sich die Anzahl der Zellen dieser Reihe ganz erheblich vermehrt, die im Beginn der Kultur

vorhandene gelblich-bräunliche Färbung des peripheren Plasmas war in gelblich-grün übergegangen. Cyanophycinkörner waren nicht mehr zu erkennen. Benachbarte Zellreihen desselben Fadens hatten am 11./VIII. ihre Zellenzahl nicht vermehrt, ihre Zellen waren zum Teil abgestorben, auch die lebenden noch unverändert cyanophycinreich. Außer dem beschriebenen Zellenfaden enthielt die Hängetrophenkultur einen Fadenknäuel, der bei der Untersuchung am 28./VII. aus cyanophycinreichen Zellen bestand. Am 11./VIII. konnte festgestellt werden, daß die Zellen des Knäuels sich stark vermehrt hatten, Cyanophycin wurde nicht mehr erkannt. Nun wurde die Kultur mit Alkohol extrahiert und mit Essigkarmin gefärbt. Die Zellen des Knäuels erwiesen sich meist als cyanophycinfrei, hier und da fanden sich sehr kleine Körnchen in geringer Zahl. In dem beschriebenen Einzelfaden war die Zellreihe mit vermehrter Zellenzahl cyanophycinfrei. Große, ungefärbte Zentralsubstanzkugeln lagen im gefärbten Zentralkörper. Die Zellreihen, deren Zellenzahl sich nicht vermehrt hatte, enthielten schön gefärbte Cyanophycinkörner.

Eine andere, am 6./VIII., wie die vorstehend beschriebene aufgestellte Hängetrophenkultur von Peltigeragonidien hatte als Kulturflüssigkeit Peltigeraextrakt erhalten. Dasselbe war durch Zerreiben der Flechte mit etwas Leitungswasser hergestellt und nach zwei Tagen von den Flechtentrümmern abfiltriert worden. Es reagierte alkalisch. Verschiedene Zellreihen zeigten ein sehr verschiedenes Verhalten: Eine Reihe von vier cyanophycinreichen Zellen war schon am 13./VIII. abgestorben, während ein cyanophycinreicher Fadenkomplex am 14./VIII. seine Zellen vermehrt hatte und körnerreich geblieben war. Am 17./VIII. hatte eine Vermehrung auf das Mehrfache seiner ursprünglichen Zellenzahl stattgefunden. Die Zellen erschienen dabei unverändert körnerreich. Am 18./VIII. waren die Fadenwindungen so eng und dicht geworden, daß ein sicheres Urteil über den Zellinhalt sich nicht mehr gewinnen ließ. Am 22./VIII. waren die Fadenwindungen minder dicht geworden, stark gelockert, die Zellen körnerreich.

Am 14./VIII. wurde ein zwanzigzelliger Faden genau untersucht, und alle Zellen wurden cyanophycinreich befunden. Am 17./VIII. hatte sich der Faden stark gekrümmt und auf etwa 40 Zellen vermehrt. Zwei Zellen waren nunmehr körnerfrei, die übrigen im wesentlichen unverändert körnerreich. Am 18./VIII. hatte weitere Zellenvermehrung stattgefunden. Größere Körner waren nun überhaupt nicht mehr, kleine nur hier und da zu erkennen. Am 19./VIII. waren nach weiterer Zellenvermehrung nur noch hier und da ganz minimale Körnchen zu beobachten. Aus dem gekrümmten Faden war ein Knäuel entstanden, welcher am 22./VIII. völlig abgestorben war, während zwei benachbarte körnerreiche Knäuel noch am Leben waren. Auch am 30./X. enthielt die Kultur noch zahl-

reiche lebende und (insoweit sich das feststellen ließ) cyanophycinreiche Knäuel. In einigen Fällen konnte das Absterben körnerreicher Zellen verfolgt werden. Sie verloren ihren Cyanophycingehalt, das periphere Plasma entfärbte sich und die ganze Zelle verkleinerte sich erheblich.

Aus den mitgeteilten Beobachtungen ergibt sich, daß Cyanophycin aus Zellen, welche Wachstum und Teilung erfahren haben, verschwunden sein kann, während es in benachbarten Zellen, welche sich nicht geteilt haben, erhalten bleibt. — Daß, wenn Cyanophycin eine Substanz ist, welche beim Zellenwachstum verbraucht werden kann, der jeweilige Gehalt der Zellen an diesem Stoffe durch das Verhältnis der Produktion zum Verbrauch bestimmt werden muß, ist selbstverständlich, und so war denn auch in den untersuchten Fällen mit Wachstum und Teilung der Zellen nicht immer das Verschwinden der Cyanophycinkörner verbunden, im Gegenteil schienen auch in wachsenden Fäden Cyanophycinkörner neu entstehen zu können. Es wurden cyanophycinreiche Fäden beobachtet, deren Zellen nach beträchtlicher Vermehrung der Zellzahl unverändert cyanophycinreich zu sein schienen. Auch nach weiterer Zellenvermehrung waren die Fäden körnerreich geblieben. Daß hier eine Abnahme der Körner während der Zellvermehrung stattgefunden hat, diese Vermehrung dann zeitweilig von Wachstumsstillstand und Neubildung von Cyanophycin unterbrochen worden ist und gerade immer in diesen letzteren Perioden die Beobachtungen stattgefunden haben, ist möglich, aber nicht wahrscheinlich.

Beim Absterben der Zellen kann das Cyanophycin erhalten bleiben, in anderen Fällen aber auch verschwinden.

Zellen, aus welchen nach Wachstum und Teilung das Cyanophycin verschwunden ist, können reich an Zentralsubstanz sein.

Verschiedene Zellen derselben Kultur können sich bezüglich ihrer Inhaltsverhältnisse durchaus verschieden verhalten. Absterbende und wachsende, in Teilung begriffene Zellen finden sich neben solchen, welche während der Beobachtungsdauer keine Veränderung erkennen lassen. Meist, aber keineswegs immer, verhalten sich kürzere oder längere Zellreihen eines Fadens, oder selbst ganze Fädenkomplexe gleichartig.¹⁾ Es ist nicht wahrscheinlich (wenn auch nicht undenkbar), daß die äußeren Bedingungen für zwei benachbarte Zellen in einem Hängetropfen verschieden sind. Möglicherweise beruht das differente Verhalten von Nachbarzellen unter Umständen darauf, daß sie bei ihrer Entstehung durch Teilung verschiedene Eigenschaften erhalten haben.

¹⁾ Auf die verschiedenartige Inhaltsbeschaffenheit verschiedener Zellen und Zellreihen derselben Kultur habe ich a. a. O. früher schon mehrfach hingewiesen. Vergl. auch Macallum. *Cytology of non nucleated organisms*, l. c. p. 16.

Daß durch Mangel an bestimmten Nährstoffen herbeigeführter Wachstumsstillstand unter Umständen zu besonderer Anhäufung von Cyanophycin führen kann, scheint auf Grund der folgenden Beobachtungen wahrscheinlich zu sein, sie mögen hier in extenso mitgeteilt werden, da sie Anknüpfungspunkte für weitere Untersuchungen darbieten¹⁾. Am 12./XI. 1902 wurde eine größere lebende Nostockugel, welche einer Zimmerkultur in Leitungswasser entnommen war, in Leitungswasser stark abgespült und dann in einem Erlenmeierkolben mit Sachsscher Nährlösung²⁾, welche einen Zusatz von 1‰ Traubenzucker erhalten hatte, eingebracht. Der Kolben gelangte, mit Wattebausch verschlossen, an ein Nordfenster des Arbeitszimmers. Bald erschien die Flüssigkeit durch Bakterien stark getrübt, während an der Fensterseite am 29./XII. dicht über dem Flüssigkeitsspiegel an der Kolbenwandung kleine Nostockolonien kenntlich wurden. Am 6./III. 1903 wurden auch auf der Flüssigkeit schwimmende kleine Nostockolonien bemerkt, desgleichen an der inzwischen völlig entfärbten, ursprünglich eingebrachten großen Nostockugel. Die Zellen der schwimmenden Nostockolonien enthielten im Leben durchweg schön dunkel-olivgrün gefärbtes peripheres Plasma ohne erkennbare Cyanophycinkörner. Die Zentralkörper führten feine Granulationen. Nach Extraktion mit Alkohol konnte durch Essigkarmin in drei untersuchten Proben meist kein Cyanophycin gefunden werden, einzelne Zellen enthielten wenige Körner. Die Prüfung des Alkoholmaterials mit Methylenblau ergab sehr wechselnde Mengen von Zentralsubstanz, vielfach fehlte sie ganz. Besonders zentralsubstanzreiche Zellen, desgleichen größere Zentralkörper kamen nicht zur Beobachtung. Fig. 10 zeigt in Teilung begriffene Zellen mit durch Methylenblau himmelblau gefärbtem Zentralkörper, bei a ohne Zentralkörper, bei b und c mit einem resp. zwei Körnern. Jodjodkali bewirkte in allen untersuchten Zellen (mit Ausnahme der Grenzzellen) eine schöne Glykogenfärbung des Inhaltes. Das Verhalten des Zentralkörpers war nicht festzustellen.³⁾

1) Die ausführliche Mitteilung dieser und ähnlicher Versuchsergebnisse erfolgt in der vorliegenden Arbeit auch deshalb, um endgültig zu verhindern, daß die Literatur fort und fort weiter mit Berichten belastet wird, deren Abweichungen voneinander darauf beruhen, daß die Autoren das verschiedenartige Verhalten verschiedener Teile derselben Kulturen nicht hinreichend beachten.

2) 1000 ccm Wasser, 1 g salpetersaures Kali, 0,5 g Kochsalz, 0,5 g Gips, 0,5 g schwefelsaures Magnesium, 0,5 g gewöhnlicher phosphorsaurer Kalk (fein pulverisiert). (Sachs Vorlesungen über Pflanzenphysiologie I. p. 242, 1882.)

3) Ein eigentümliches Verhalten zeigte am 6./III. 1903 eine Nostockkultur, welche seit dem 12./XI. 1902 im Vermehrungshause des hiesigen Gartens gestanden hatte. Sie befand sich in einem mit Wattebausch verschlossenen Erlenmeierkolben, welcher Knopsche Nährlösung + 1‰ Traubenzucker enthielt. Der Flüssigkeitsspiegel war von kleinen Nostockolonien bedeckt, deren Fadenzellen zum Teil blaugrün, zum Teil olivgrün

Am 7./V. erschien der Inhalt in den lebend untersuchten Zellen der schwimmenden Kolonien unverändert, nur waren hier und da große Zentralkörner in Einzahl wahrzunehmen. Nach Alkoholextraktion und Zusatz von Essigkarmin waren jedoch in den meisten Zellen sehr kleine Cyanophycinkörnerchen zu sehen, größere Körner fehlten (Fig. 11). Vielfach fanden sich Zellenpaare, deren Gestaltung vermuten ließ, daß vor kurzer Zeit eine Teilung erfolgt sei.

An der Fensterseite der Wandung des Kulturkolbens reichte ein Belag von Nostockolonien ziemlich weit über den Flüssigkeitsspiegel empor. Die Kolonien besaßen hier meist unregelmäßig wurstförmige Gestalt.¹⁾ Die Gallerthüllen waren vielfach im inneren Teile gelbbraun gefärbt. Zwischen den lebenden, durchweg außerordentlich cyanophycinreichen Zellen (Fig. 12)²⁾, fanden sich auch abgestorbene. Die Gestaltung der lebenden Zellen zeigte keinerlei Spuren von Teilungen. Zentralsubstanz war nur in geringer Menge nachzuweisen. Jodjodkali bewirkte in den Zellen mancher Kolonien schöne „Glykogenfärbung“, während in anderen Fällen nur eine Gelbfärbung des plasmatischen Zellinhaltes eintrat.

Am 17./VI. schienen die in der Flüssigkeit schwimmenden oder untergetaucht an der Wandung des Kulturgefäßes sitzenden Kolonien im allgemeinen vermehrt und vergrößert zu sein, sie waren allgemein sehr viel größer als die an der Fensterseite oberhalb des Flüssigkeitsspiegels der Wandung ansitzenden Kolonien. Die letzteren schienen seit der früheren Untersuchung nicht gewachsen zu sein. An der vom Fenster abgekehrten Seite des Kulturgefäßes befand sich ein Ansatz von Nostockolonien an der Wandung, der sehr viel weniger hoch über den Flüssigkeitsspiegel emporreichte als an der Fensterseite. Er bestand zum Teil aus etwas größeren Kolonien als der Ansatz der Fensterseite. Bei der Untersuchung der lebenden Zellen erschienen die schwimmenden und untergetauchten Kolonien im allgemeinen cyanophycinfrei, hier und da auch mit kleinen

gefärbt waren. Der Zentralkörper enthielt feine Granulationen. Die blaugrünen Zellen (a Fig. 15) erschienen oft zusammengedrückt und waren kleiner als die olivgrünen (b Fig. 15).

Nach Extraktion mit Alkohol erwiesen sich die Zellen bis auf vereinzelte Ausnahmen als völlig cyanophycinfrei. Mit Methylenblau konnte meist keine Zentralsubstanz nachgewiesen werden. Jodjodkali färbte in den größeren Zellen das periphere Plasma mit intensiver „Glykogenfarbe“, der Zentralkörper blieb hell, in den kleineren Zellen hingegen trat nur Gelbfärbung ein. (Vergl. Fritsch. *Studies on Cyanophyceae. The new Phytologist*, vol. III Nr. 4, April 1904, p. 90.

Die Arbeit enthält auch einige Angaben über das Verhalten der Cyanophycinkörner, der Verfasser hat jedoch hier die Literatur über Cyanophycin und Zentralsubstanz nicht hinreichend berücksichtigt).

¹⁾ Vergl. Thuret. *Sur la reproduction de quelques Nostochinées. Mém. de la Soc. imp. des sciences nat. de Cherbourg. T. V, Pl. 2, Fig. 9, 1857.*

²⁾ Fig. 13. Nach Alkoholextraktion mit Essigkarmin gefärbt.

Körnchen versehen. Desgleichen zeigten die Kolonien über dem Wasserspiegel an der vom Fenster abgekehrten Seite des Kolbens kein Cyanophycin, während die Kolonien der Fensterseite allgemein riesige Cyanophycinkörner enthielten. Nach der Extraktion mit Alkohol ergab sich folgendes: Die Untersuchung mit Essigkarmin zeigte hinsichtlich des Cyanophycingehaltes der schwimmenden und an der Fensterseite über dem Flüssigkeitsspiegel sitzenden Kolonien dieselben Verhältnisse wie am 7./V.¹⁾ Die Kolonien über dem Flüssigkeitsspiegel an der vom Fenster abgekehrten Seite des Kolbens zeigten kein Cyanophycin. Die Untersuchung mit Methylenblau ergab in den Kolonien über dem Wasserspiegel an der vom Fenster abgekehrten Seite zum Teil Reichtum an Zentralsubstanz, in den Kolonien an der Fensterseite konnte durch 1⁰/₁₀₀ Salzsäure²⁾ keine Zentralsubstanz nachgewiesen werden. Auch in den schwimmenden Kolonien konnte durch 1⁰/₁₀₀ Salzsäure meist keine Zentralsubstanz nachgewiesen werden, indessen fanden sich auch manche Fäden mit kleinen Zentralkörnern in größerer oder geringerer Anzahl. Jodjodkali bewirkte in allen oberhalb des Flüssigkeitsspiegels sitzenden Kolonien intensive „Glykogenfärbung“. Das Verhalten der Zentralkörper wurde nicht festgestellt. In den schwimmenden Kolonien war die Färbung wesentlich heller, mehr gelblich. Die Zentralkörper schienen hier nicht gefärbt zu werden.

Am 13./IX. 1903 fanden sich in den schwimmenden Kolonien sehr viel abgestorbene Zellen. Bei der Untersuchung mit Essigkarmin wurden sehr cyanophycinarme, aber auch cyanophycinreichere Kolonien nachgewiesen. Die der Wandung an der Fensterseite ansitzenden Kolonien waren klein und wurstförmig geblieben. In vielen Kolonien waren fast alle Zellen noch am Leben, erfüllt von großen Cyanophycinkörnern. Auch in den vereinzelt vorkommenden abgestorbenen Zellen waren hier noch Cyanophycinkörner kenntlich. In anderen Kolonien waren die lebenden Zellen cyanophycinarm oder cyanophycinfrei und enthielten große Vacuolen, in wieder anderen Kolonien waren die lebenden, gleichfalls mit großen Vacuolen versehenen Zellen alle cyanophycinfrei. Nachprüfung mit Essigkarmin bestätigte die Beobachtungen am lebenden Objekt.

Nunmehr wurde die Kultur abgebrochen. Die Kulturflüssigkeit hatte sich während der Kulturdauer durch Verdunstung nicht unwesentlich vermindert, die Algen hatten sich stark vermehrt, so daß die ganze Flüssigkeit von den Nostockolonien locker erfüllt war. Andere Algen wurden nicht vorgefunden,

¹⁾ Es wurden indessen nunmehr, wenn auch nicht häufig, in den Nostockolonien an der Fensterseite über dem Flüssigkeitsspiegel, Zellen gefunden, welche Teilungserscheinungen aufwiesen, (Fig. 14).

²⁾ Methylenblau eignete sich hier nicht zum Nachweis, da die Gallerthüllen sehr intensiv gefärbt wurden und eine Freilegung der Zellen auf Schwierigkeiten stieß.

wohl aber Bakterien in reichlicher Menge. Die außerordentliche Anhäufung von Cyanophycin in den Wandkolonien der Fensterseite entspricht dem Cyanophycinreichtum in den Nostockolonien, welche in der alten Zimmerkultur der Kristallisierschalenwandung ansaßen (vergl. weiter oben p. 69). Dieser Cyanophycinreichtum der letzteren war nach der Kultur in Nährlösung in solchen Zellreihen verschwunden oder doch sehr wesentlich reduziert, welche eine starke Zellvermehrung erfahren zu haben schienen. Die Annahme erscheint zulässig, daß die Nostockolonien, welche über dem Flüssigkeitsspiegel an der Fensterseite der Kolbenwandung ansaßen, mit Nahrungsstoffen nicht hinreichend versorgt wurden¹⁾, infolge davon kein wahrnehmbares Wachstum erfuhren, hingegen größere Mengen von Cyanophycin aufspeicherten, welche mit dem beginnenden Absterben der Kolonien am Schlusse der Kulturperiode teilweise wieder verschwanden.

Um zu prüfen, ob durch Verdünnung der Nährlösung eine Ablagerung von Cyanophycin in den Zellen allgemein zu erreichen sei, wurde eine Kultur von Peltigeragonidien in Leitungswasser, welche seit dem 3. November 1902 in der Vermehrung gestanden hatte, benutzt. Die Untersuchung einer am 17./III. 1903 mit Alkohol extrahierten Probe in Essigkarmin zeigte, daß cyanophycinreiche, -arme und -freie Fäden und Fadenkomplexe vorhanden seien. Es gelangte nun ein Teil der Kultur in eine Kristallisierschale mit reinem destilliertem Wasser (bezogen aus dem hiesigen chemischen Staatslaboratorium). Diese Schale blieb neben der Ausgangskultur im Vermehrungshause stehen. Eine am 1./IV. entnommene, mit Alkohol extrahierte Probe zeigte nach Färbung mit Essigkarmin beträchtliche Schwankungen in der Größe der Zellen, oft im selben Faden. Der Cyanophycingehalt war sehr verschieden (Fig. 16). In den cyanophycinfreien Fäden trat der gefärbte Zentralkörper gut hervor. Bei a, b, c sind zwischen abgestorbenen Fäden liegende Zellreihen abgebildet. Die lebenden Zellen sind hier sehr cyanophycinreich (die Zellen bei x sind abgestorben). Zellreihen wie b und c mit einzelnen, stark vergrößerten, besonders cyanophycinreichen Zellen waren häufig.

Fig. 17 stellt eine am 14./IV. der Kultur entnommene lebende Zellreihe dar. Sie bestand aus größeren cyanophycinreichen und aus cyanophycinfreien Zellen, welche im Absterben begriffen zu sein schienen. Die folgenden, nicht mit abgebildeten Zellen des Fadens waren abgestorben. Die weitere Untersuchung lebender Fäden am 14./IV. und 27./V. ergab keine Veränderung in den Inhaltsverhältnissen. Nun wurde das Algenmaterial in eine neue Kristallisierschale mit destilliertem Wasser über-

¹⁾ An den Wandungen des Kulturkolbens fand sich häufig ein Beschlag von Wassertröpfchen, welcher von der Verdunstung der Nährlösung herrührte. Er bildete wahrscheinlich den wesentlichen Teil einer nahrungsarmen Flüssigkeitsschicht in der Umgebung der Nostockolonien.

tragen. Am 18./VI. konnte bei der Untersuchung lebender Fäden keine Veränderung festgestellt werden. Am 24./VII. waren die Algen meist abgestorben, immerhin aber noch manche kürzere Fadenstücke am Leben, zum Teil waren diese auf ein bis zwei Zellen reduziert. Die lebenden Zellreihen besaßen stets eine nach außen allseitig scharf abgegrenzte Gallerthülle (Fig. 18 bei x, abgestorbene, kollabierte Zellen), sie waren meist sehr cyanophycinreich¹⁾, indessen fanden sich auch cyanophycinarme oder -freie Zellen.

Am 3./VIII. hatten sich die Verhältnisse nicht wahrnehmbar verändert.

Es hat sich hier also unter den vorhandenen Kulturbedingungen eine allgemeine starke Cyanophycinablagerung, wie sie in den weiter oben beschriebenen Nostockolonien über dem Flüssigkeitsspiegel stattgefunden hatte, nicht nachweisen lassen. Es mag dies mit differenten Eigenschaften zusammenhängen, welche die Zellen der verschiedenen Kulturen besaßen, als die Versuche einsetzten.

Hegler teilt (l. c. p. 306) mit, daß nach einigen Wochen der Verdunkelung Cyanophycin aus seinen Cyanophyceenkulturen verschwunden war. Dasselbe berichtet Kohl (p. 51), nachdem er jedoch (p. 32, 33) angegeben hatte, daß in Teichwasserkulturen von *Tolypothrix lanata*, welche mehrere Monate lang verdunkelt worden waren „die Zentralkörner in den älteren Zellen entschieden kleiner, in den jüngeren sehr, sehr klein und dünn verteilt waren, ebenso die Cyanophycinkörner“. Kulturen, welche unter den gleichen Verhältnissen, aber mit einem Zusatz von Traubenzucker und Pepton vegetiert hatten, zeigten „eine Abnahme der Zentralkörner wie oben, eine deutliche Zunahme dagegen der Cyanophycinkörner“. Bei intensiver Belichtung der Kulturen glaubt Kohl eine Abnahme der Zentralkörner beobachtet zu haben, jedoch nicht bei gedämpftem Licht.

Bei früheren Versuchen hatte ich (1890 l. c. p. 15) in Dunkelkulturen eine merkliche Veränderung des Cyanophycingehaltes nicht nachweisen

¹⁾ In einer alten *Peltigeragonidien*kultur (sie war am 20. November 1902 auf Tonstücken angesetzt worden, welche in einer Petrischale lagen, deren Boden mit Knopscher Lösung bedeckt war. Die Kultur hatte, vor Verdunstung geschützt, bis zur Untersuchung am 12./IX. 1903 im Vermehrungshause gestanden) fand ich in übrigens völlig abgestorbenen Fäden kleine, lebende, cyanophycinfreie Fadenknäuel eingeschaltet, welche vermutlich aus Zellen, wie sie in Fig. 18, und vergrößerten Zellen, wie sie in Fig. 16 b, c abgebildet sind, hervorgegangen waren. Vergl. hierzu:

F. Brand. Bemerkungen über Grenzzellen u. über spontanrote Inhaltkörper der Cyanophyceen. Berichte der Deutschen botan. Gesellsch. 1901, p. 153.

F. Brand. Morphologisch-physiologische Betrachtungen über Cyanophyceen. Beihefte zum botan. Centralblatt, Bd. XV, Heft 1, 1903.

Sauvageau. Sur le *Nostoc punctiforme*. Ann. des Sciences nat. Bot. T. 3.

können. Durch Entfernung der undurchsichtigen Rezipienten von Dunkelkulturen im Warmhause konnte ein Verschwinden von Zentralsubstanz und Cyanophycin bewirkt werden.¹⁾

Im folgenden mag über einige Verdunkelungsversuche berichtet werden, welche ich neuerdings angestellt habe:

Am 28./XI. 1902 wurde eine schön smaragdgrüne *Lynghya* in Kultur genommen, welche in einem Bassin des Vermehrungshauses aufgetreten war. Die Algen gelangten auf Tonscherben in zwei Petrischalen, deren Boden mit Knopscher Lösung bedeckt war.²⁾ Als die Schalen bis zum 10./I. 1903 gegen Verdunstung geschützt, am Lichte im Vermehrungshause gestanden hatten, hatten sich die Algen auf den Tonstücken beträchtlich ausgebreitet. Nun wurde die eine Schale durch einen geeigneten Rezipienten verdunkelt. Am 16./I. gelangte eine Probe der Dunkelkultur in Alkohol. Mit Methylenblau konnte hier viel Zentralsubstanz, meist in kleinen Körnchen nachgewiesen werden. Mit Essigkarmin wurden im inneren Teil des peripheren Plasmas äußerst kleine Körnchen erkannt. Eine Probe der belichteten Kultur zeigte, am 5./II. lebend untersucht, sehr kleine, glänzende Körnchen im Zentralkörper. Nach der Extraktion mit Alkohol und Färbung mit Essigkarmin erwiesen sich die Fäden zum Teil als cyanophycinfrei, teilweise enthielten sie aber auch Cyanophycinkörner verschiedener Größe. Am 13./II. wurde die ganze Dunkelkultur mit Alkohol extrahiert und in Essigkarmin untersucht: Die Fäden waren zum Teil reich an Cyanophycin.

Am 4./III. wurde eine gut entwickelte Kultur von *Anabaena* aus *Blasia* verdunkelt. Die Kultur hatte sich im Vermehrungshause auf Tonstücken, welche in einer mit Knopscher Lösung beschickten, vor Verdunstung geschützten Petrischale lagen, entwickelt. Am 14./III. war ein beträchtlicher Teil der Fäden abgestorben. Die ganze Kultur gelangte nun in Alkohol und wurde mit Essigkarmin gefärbt. Zum Teil waren die Fäden cyanophycinfrei, während in dieselben eingeschaltete Sporen von Cyanophycin erfüllt waren (Fig. 19). Andere Fäden waren aber auch cyanophycinreich.

Aus einer Kristallisierschale mit einer gut gedeihenden *Peltigera*-gonidienkultur in Leitungswasser, welche seit dem 3./XI. 1902 im Vermehrungshause gestanden hatte, gelangte am 23./XII. ein Teil der Algen in einer anderen Krystallisierschale mit etwas Leitungswasser unter einen undurchsichtigen Rezipienten. Die letztere Schale blieb neben der belichteten im Vermehrungshause stehen. Eine Probe der Algen erwies sich

¹⁾ Weitere Literaturangaben bei E. Zacharias 1900, l. c. p. 35.

²⁾ Hinsichtlich dieser Kulturmethode vergl. Chodat und Goldflus. Note sur la culture des Cyanophycées. (Bull. de l'Herbier Boissier T. V. 1897.)

als cyanophycinreich. Von Zeit zu Zeit vorgenommene Untersuchungen mit Alkohol extrahierter und in Essigkarmin gefärbter Proben ergaben folgendes:

31./XII. Dunkelkultur. Cyanophycin allgemein verbreitet, besonders cyanophycinreiche Zellen jedoch nicht vorhanden.¹⁾

10./I. 1903. Verdunkelte und belichtete Kultur gleichartig. Cyanophycin meist reichlich vorhanden, konnte aber auch fehlen.

29./I. Dunkelkultur cyanophycinfrei. Belichtete Kultur zum Teil cyanophycinreich. Stellenweise fehlte Cyanophycin oder war spärlich vorhanden.

7./II. Dunkelkultur nur in wenigen Fäden vereinzelte Cyanophycin-körner.

9./II. Dunkelkultur. In einer größeren Probe fand ich zunächst dieselben Verhältnisse wie am 7./II., dann aber auch ganze Fadenkomplexe, in welchen Cyanophycin reichlich vorhanden war.

3./III. Dunkelkultur. Meist kein Cyanophycin. Nur vereinzelte Fadenkomplexe enthielten einzelne Körner in ihren Zellen.

Da sich zahlreiche absterbende Fäden zeigten, wurde am 9./III. die ganze Kultur in Alkohol eingetragen. Sieben verschiedene Proben wurden mit Essigkarmin geprüft. Dabei zeigten sich die Zellen meist cyanophycinfrei, viele Zellen enthielten aber auch einzelne oder viele Cyanophycin-körner.

Hinsichtlich der Zentralkörner ergab sich bei der Prüfung mit Methylenblau folgendes:

31./XII. 1902. Dunkelkultur. Meist sehr beträchtlicher Gehalt an Zentralsubstanz. Meist enthielten die Zellen je ein großes Zentralkorn, in anderen Fällen auch mehrere kleinere Körner.

10./I. 1903. Dunkelkultur und belichtete Kultur gleichartig. Größe und Menge der Zentralkörner wechselten in verschiedenen Zellen. Sie fehlten zum Teil auch ganz.

Bis zum Abbruch der Kultur am 9./III. konnte in den entnommenen Proben in den meisten Zellen viel Zentralsubstanz nachgewiesen werden, teils in Form eines großen Zentralkorns, teils in Gestalt mehrerer kleinerer Körner, stets wurden aber auch zentralsubstanzfreie Zellen gefunden.

In der am 31./XII. der Dunkelkultur entnommenen Probe färbten sich die Zentralkörner in den lebenden Zellen mit Methylenblau rot, während sie nach der Behandlung der Zellen mit Alkohol in Methylenblau die übliche schwarzblaue Färbung annahmen. Das periphere Plasma zeigte nach längerer Behandlung lebender Fäden mit Methylenblau in

¹⁾ Jodjodkaliumzusatz ergab eine „Glykogenfärbung“ des ganzen Zellinhaltes.

einigen Zellen eine rotblaue Färbung. Ein deutlich gefärbter Zentralkörper wurde nirgends sicher erkannt, meist lagen die intensiv gefärbten Zentralkörper in einem farblosen Raume.

In den am 10./I. der belichteten und der Dunkelkultur entnommenen Proben färbten sich Zentralkörper und Zentralkörner mit Methylenblau in der üblichen Weise.

In einer am 29./I. der Dunkelkultur entnommenen Probe fiel eine größere Anzahl stark vergrößerter Zellen auf, vereinzelt waren sie schon früher beobachtet worden. Sie waren zum Teil mehr als doppelt so groß als eine normale, in Teilung begriffene Zelle. Übrigens waren sie durch Übergänge mit den normalen Zellen verbunden. Sie waren zum Teil frei von Zentralsubstanz, zum Teil auch reich daran. Ihr Inhalt war im allgemeinen durchsichtiger, erschien minder substanzreich als derjenige der normalen Zellen. Das periphere Plasma war sehr hell gefärbt, in einzelnen Fällen enthielt es farblose Stellen (Vacuolen?). Bei der Behandlung mit Methylenblau färbten sich die großen Zentralkörner zunächst rubinrot, im peripheren Plasma wurden violette Vacuolen beobachtet. Nach längerer Einwirkung des Farbstoffes vertiefte sich die Färbung der Zentralkörner bis zu schwarz. Der Zentralkörper färbte sich hellblau.

Da die Möglichkeit vorlag, daß in den verdunkelten Peltigeragonidienkulturen das Verschwinden des Cyanophycin dadurch hintangehalten wurde, daß Neubildung von Cyanophycin unter Benutzung von etwa im Kulturwasser enthaltenen Substanzen eintrat, welche aus Resten abgestorbener Trümmer des Peltigerathallus herrühren konnten¹⁾, so wurde zur möglichsten Entfernung derartiger etwa vorhandener Stoffe folgendes Verfahren eingeschlagen: Eine gut entwickelte Gonidienkultur von gesundem Aussehen wurde am 24./II. im Vermehrungshause verdunkelt, das Kulturwasser täglich abgossen und durch neues filtriertes Leitungswasser ersetzt. Von letzterem wurde ein Vorrat im Vermehrungshause gehalten, so daß die Temperatur des benutzten Leitungswassers von derjenigen des jeweiligen Kulturwassers nicht abwich. Eine vor der Verdunkelung entnommene Gonidienprobe zeigte nach der Extraktion mit Alkohol und der Färbung mit Essigkarmin viele cyanophycinfreie Zellreihen, verbreitet waren andere Zellreihen mit sehr wenig Cyanophycin neben solchen, welche meist kleinere Körner in größerer Anzahl enthielten. Als am 16./III. ein beträchtlicher Teil der Zellen abgestorben war²⁾, wurde die

¹⁾ Vergl. über Herstellung von Gonidienkulturen E. Zacharias 1900 l. c. p. 38.

²⁾ Hinsichtlich der Möglichkeit eines schädigenden Einflusses von wiederholtem Leitungswasserzusatz vergl. übrigens Nägeli. Über oligodynamische Erscheinungen in lebenden Zellen. (Denkschriften der schweizerischen naturforschenden Gesellschaft. Bd. XXXIII. 1. 1893).

Kultur abgebrochen. Im Cyanophycingehalt war eine nachweisbare Veränderung nicht eingetreten.

Es konnte somit auch durch längere Zeit andauernde Verdunkelung kein allgemeines Verschwinden von Cyanophycin und Zentralsubstanz aus den beschriebenen Kulturen erzielt werden. Daß diese Stoffe aus bestimmten Zellkomplexen verschwanden, ist möglich, ließ sich aber bei dem nicht homogenen Charakter der Kulturen nicht feststellen. Die verschiedenartigen Ergebnisse der Verdunkelungsversuche verschiedener Autoren weisen darauf hin, daß verschiedenartige Kombinationen von Bedingungen nicht hinreichend bekannter Art eingewirkt haben werden. Ob den Kulturen in allen Fällen Proben in hinreichender Anzahl entnommen wurden, um bei dem vielfach festgestellten ungleichen Verhalten verschiedener Fäden und Fadenkomplexe derselben Kultur eine zutreffende Beurteilung des Sachverhaltes zu gewährleisten, ist unsicher.

Bei einer früheren Untersuchung (1900 p. 37) konnte ich bei einer Reihe daraufhin geprüfter Thalli von *Peltigera canina* in den vegetierenden vorderen Teilen innerhalb der Gonidien (abgesehen von wenigen, minimalen Körnchen) kein Cyanophycin beobachten. Dasselbe hat Palla mitgeteilt. In den hinteren, absterbenden Thallusteilen hingegen, in welchen nur noch relativ wenige Gonidien zu erkennen waren, zeigte sich ein Reichtum an großen Cyanophycinkörnern.

Gonidienkulturen, welche den vorderen Teilen der Thalli entstammten, zeigten stets nach einiger Zeit beträchtlichen Reichtum an Cyanophycin, wenn auch nicht in allen Zellen. Entsprechende Resultate erhielt ich auch bei späteren Kulturversuchen, welche wie die früher geschilderten angestellt wurden.¹⁾ Die Untersuchung der vorderen Teile einer Anzahl von Thalli, welche zu verschiedenen Zeiten eingesammelt waren, führte jedoch neuerdings teilweise zu abweichenden Resultaten. Wenn auch meist kein, oder nur wenig Cyanophycin in den Gonidien gefunden wurde, so kamen doch auch Objekte mit reichem Cyanophycingehalt vor.

Über die Ausgestaltung der Gonidien in den Kulturen sollen hier einige Angaben Platz finden: Am 3./XI. 1902 wurden vordere Thallusteile von *Peltigera canina* von gesundem Aussehen zerrieben und in einer Kristallisierschale mit etwas Leitungswasser bis zum 20./XI. im Vermehrungshause belassen. Dann wurden kleine Mengen der Flechten-Trümmer auf Tonstückchen aufgetragen, welche in einer Petrischale lagen, deren Boden mit Knopscher Lösung bedeckt war. Die Schale verblieb, vor

¹⁾ Gonidienkulturen durch Zerreiben des Thallus gewann auch Peirce aus *Ramalina reticulata* (The nature of the association of Alga and Fungus in Lichens. Proceedings of the California Acad. of science. Series III. vol. I. 1899, Nr. 7. Ref. im Botan. Centralblatt LXXXI. p. 55, 1900.

Verdunstung geschützt, im Vermehrungshause. Am 17./III. 1903 war die abgestorbene Pilzmasse der Flechtentrümmer im Innern von zahlreichen kleinen, aus Gonidien hervorgegangenen Fadenknäueln durchsetzt. Am Rande der Trümmer hatten sich aber aus diesen Knäueln überall Fäden frei gemacht. Es fanden sich Übergänge von eng gewundenen Knäueln zu lockerer gewundenen. Aus letzteren streckten sich dann frei weiter wachsende Fäden gerade hervor. Überall war erheblicher Reichtum an Cyanophycin vorhanden (Fig. 20). Teile der mehr oder weniger gerade gestreckten Fäden zeigt Fig. 21. a ist die Spitze eines Fadens, b ein weiter rückwärts belegenes Stück. Nur hier war am lebenden Faden eine Scheide zu erkennen.

Am 25./V. war der Zustand im wesentlichen nicht verändert. Fig. 22a zeigt ein kleines Thallusfragment mit dichten Algenknäueln im Innern, umgeben von einem Hofe mehr vereinzelter Fäden, Fig. 22b kleine dichte Algenknäuel, von lockerer gewundenen Fäden umgeben. Grenzzellen waren sowohl in den dichteren Knäueln, als auch in den mehr vereinzelter Fäden zu erkennen.

In ähnlicher Weise wie die vorstehend beschriebene wurde am 28./XI. 1902 eine zweite Kultur angesetzt. Kleine Mengen von zerriebenem *Peltigerathallus* wurden auf Tonstückchen aufgetragen, welche in einer Petrischale lagen, deren Boden mit Knopscher Lösung bedeckt war. Die Schale verblieb, vor Verdunstung geschützt, bis zum 1./V. 1903 am Nordfenster des Arbeitszimmers. Auf den Tonstückchen waren nun, den aufgebrauchten Thallustrümmern entsprechend, Aggregate dunkel gefärbter Kügelchen zu erkennen (Fig. 23). Diese enthielten mehr oder weniger locker gewundene Fadenknäuel, welche, soweit untersucht, cyanophycinreich waren (Fig. 24). Der Gehalt an Zentralsubstanz war sehr wechselnd.

Fig. 25 zeigt einen Teil eines Fadenknäuels, der lebend mit Methyleneblau gefärbt worden war. Die blau gefärbte Gallerte läßt eine sehr dünne, dunkler gefärbte Außenzone erkennen. An lockerer gewundenen Knäueln sieht man, daß jeder Faden seine eigene Gallert-hülle besitzt, welche außen intensiver gefärbt ist, als in ihren inneren Teilen.¹⁾

L. c. 1900 habe ich das Verhalten der Stärke in den Gonidien von *Xanthoria* mit demjenigen des Cyanophycin in den Gonidien von *Peltigera canina* verglichen. Die Versuche mit *Xanthoria* wurden dann im Sommer

¹⁾ Kohl bezeichnet p. 37 die Gonidien von *Peltigera canina* als „*Polycoccus punctiformis* Kg.“, vergl. dazu: Hariot, *Le Genre Polycoccus* Kützing. *Journal de Botanique*, 5. Année, 1891, p. 32. Weitere Untersuchungen hinsichtlich der systematischen Zugehörigkeit der *Peltigeragonidien* dürften angebracht sein, insoweit sie nicht etwa schon in der lichenologischen Literatur vorhanden und meiner Kenntnisnahme entgangen sein sollten.

1903 wiederholt. Am 3./VIII. wurde einem Thallusstück von gesundem Aussehen eine Probe entnommen. Bei der Prüfung mit einer Lösung von Jod in Chloralhydrat zeigten sich nur in vereinzelt, sehr wenigen Gonidien ganz geringe Mengen sehr feinkörniger Stärke. Das Thallusstück wurde nunmehr zerrieben und mit etwas Leitungswasser in einer Petrischale an ein Nordfenster des Arbeitszimmers gestellt. Die Untersuchung successive entnommener Proben mit Jod-Chloralhydrat¹⁾ ergab folgendes:

4./VIII. Einige wenige vereinzelt Gonidien enthalten Stärke.

6./VIII. Gonidien meist sehr amyllumreich. 7./VIII. Desgleichen. Am 11., 13., 18./VIII. wurden viel amyllumreiche Zellen gefunden. Vielfach enthielt der zentrale Teil der Gonidien soviel Stärke, daß er völlig blau erschien. Dabei war die Stärke häufig erheblich grobkörniger, als in den einzelnen stärkehaltigen Gonidien der Probe, welche dem Thallusstück vor dem Zerreiben entnommen worden war.

Es ist übrigens zu betonen, daß der Stärkegehalt verschiedener, zu verschiedenen Zeiten von mir neuerdings untersuchter Thallusproben nicht unwesentlich schwankte. Bestimmte Beziehungen zu Tages- oder Jahreszeiten traten dabei nicht hervor.²⁾ In zwei Fällen wurde kein Amyllum gefunden, in drei weiteren Fällen waren die meisten Gonidien stärkefrei, während andere Stärke in wechselnden Mengen enthielten.

Von einigem Interesse für die hier in Betracht kommenden Fragen schien es zu sein, die mit chlorophyllgrünen Gonidien versehene *Peltigera aphthosa* vergleichsweise zu untersuchen, von welcher in gutem Wachstum befindliche Kulturen zur Verfügung standen.

Am 1./XII. 1902 wurden Thallusteile zerrieben, und in einer Petrischale mit etwas Leitungswasser bedeckt, in das Vermehrungshaus gestellt. Gleichzeitig gelangte ein intakter vorderer Thallusteil, von gesundem Aussehen, mit etwas Leitungswasser in einer Petrischale, in das Vermehrungshaus. Bei der Untersuchung von Proben dieser Kulturen mit Chloraljod (nachdem sie mit Alkoholäther extrahiert worden waren) am 19./XII. wurde keine Stärke in den Gonidien gefunden. Dasselbe Untersuchungsverfahren ergab in dem zerriebenen Material auch am 27./XII. und 19./I. 1903 keine Stärke, am 17./II. wurde dann aber in den Chromatophoren aller Gonidien sehr feinkörnige Stärke nachgewiesen

¹⁾ Nach längerem Stehen der Präparate mit Chloralhydrat-Jod schwindet die braune Färbung des protoplasmatischen Zellinhaltes, während die blau gefärbten Stärkekörnchen schärfer hervortreten.

²⁾ Stahl sah in den Gonidien von 10 verschiedenen Flechtenspezies, auch nach 6 stündiger Assimilationsdauer, bei welcher die Flechten Kohlensäure im Überschuß (wenige Prozent) zugeführt bekamen, niemals Stärkekörner auftreten. (Der Sinn der Mykorrhizenbildung. Pringsheims Jahrbücher, Bd. 34, 1900, p. 566.)

(Fig. 26). Das intakte Thallusstück hatte sich inzwischen verfärbt, besaß nicht mehr das Aussehen wachsender Thalli. Die Gonidien stimmten durchaus mit den vorstehend beschriebenen überein.

Am 10./III. hatte die Kultur, welche das zerriebene Material enthielt, makroskopisch ein ganz hell gelbgrünes Aussehen angenommen. Die Chromatophoren der Gonidien waren sehr schmal geworden und hell gefärbt, im Zellplasma lagen große, fettähnliche Tropfen. Mit Chloraljod ließ sich in den Chromatophoren viel feinkörnige Stärke nachweisen. Nachdem nun der Kultur etwas Knopsche Nährlösung zugesetzt worden war, hatte sie am 19./III. ein schön chlorophyllgrünes Aussehen angenommen. Die Gonidienzellen und ihre Chromatophoren waren breiter geworden, letztere intensiver gefärbt. Stärke konnte mit Sicherheit nicht mehr erkannt werden. Am 25./IV. hatte sich das Aussehen der Gonidien nicht weiter verändert (Fig. 27). Am 27./IV. wurde nun auch das intakte Thallusstück wieder verglichen. Die Chromatophoren der Gonidien waren äußerst schmal und sehr hell gefärbt. Im Zellplasma fanden sich große fettähnliche Tropfen (Fig. 28).

Eine am 27./IV. mit Leitungswasser am Arbeitszimmerfenster angesetzte Kultur aus einem zerriebenen Thallusstück war am 1./VII. makroskopisch vollkommen farblos geworden. Sie enthielt nur noch farblose Gonidien, mit großen, fettähnlichen Tropfen. Mit Chloraljod konnten Stärkekörnchen nachgewiesen werden. Nach Zusatz von Knopscher Nährlösung war dann am 11./VII. die Kultur wieder ergrünt. Es fanden sich zahlreiche Gonidien mit schön gefärbtem großen Chromatophor, der Fig. 27 entsprechend, außerdem aber auch abgestorbene.

Am 24./II. wurde ein im Wachsen begriffener Thallusteil untersucht. Stärke wurde in den Gonidien mit Sicherheit nicht erkannt, jedoch fand sich in einzelnen Fällen eine äußerst feine, an der Grenze der Sichtbarkeit liegende Körnung im Chromatophor, welche vielleicht aus minimalen Stärkekörnchen bestand. Fig. 29 stellt Gonidien aus dem wachsenden vorderen Thallusteil dar, die kleineren Zellen der Figur entstammen weiter rückwärts gelegenen Teilen des Thallus.

In einem andern, am 27./II. untersuchten Thallus wurden die Gonidien des wachsenden Vorderrandes mit denjenigen des alten, hinteren Thallusendes verglichen. Die Gonidien des Vorderrandes waren bauchiger und meist größer als diejenigen des hinteren Endes, die Chromatophoren im Verhältnis zur Zellgröße in den Gonidien des Vorderrandes bedeutend größer, die fettähnlichen Tröpfchen des Zellplasmas sehr viel kleiner als in den Gonidien des hinteren Endes. Nach Extraktion mit Ätheralkohol konnten hinsichtlich des Stärkegehaltes keine Verschiedenheiten festgestellt werden. Die Chromatophoren zeigten, in Chloraljod untersucht, eine schwach violette Färbung, in einzelnen Fällen waren an der Grenze der Sichtbar-

keit liegende minimale Körnchen zu erkennen, auf deren Anwesenheit die violette Färbung der Chromatophoren zu beruhen schien. Fassen wir das vorstehende zusammen:

Die Gonidienkulturen in den Petrischalen waren nach einiger Zeit unter ungünstige Ernährungsbedingungen geraten, dabei hatten sich die Chromatophoren mit feinkörniger Stärke gefüllt. Durch Zusatz von Nährlösung konnten dann die Kulturen wieder zu lebhafter Vegetation gebracht werden, wobei die Stärke aus den Chromatophoren verschwand. Die Gonidien dieser Nährlösungskulturen glichen, wie in sonstiger Hinsicht so auch bezüglich ihres Stärkemangels den Gonidien, welche in bestimmten lebhaft wachsenden Teilen des Flechtenthallus gefunden wurden.¹⁾ In einem der untersuchten Thalli schienen allerdings auch die Gonidien seiner wachsenden Teile einen minimalen Stärkegehalt zu besitzen. Das Fehlen von Stärke in wachsenden Thallusteilen braucht also nicht, wie ich das (1900 p. 41) für *Xanthoria* als möglich bezeichnet habe, ausschließlich oder vorwiegend auf einen Verbrauch der Assimilate durch den Flechtenpilz zurückgeführt zu werden. Je nach dem Verhältnis der Bildung zu dem Verbrauch der Assimilate, sei es durch die Alge selbst oder durch den Pilz, wird eine Anhäufung von Stärke in den Gonidien erfolgen können oder nicht. In den wachsenden Thallusteilen liegt dieses Verhältnis häufig so, daß keine, oder nur wenig Stärke angetroffen wird. Dieselben Verhältnisse kehren bei den Cyanophyceen-gonidien wieder, hinsichtlich ihres Gehaltes an Cyanophycin. An Hängertropfenkulturen wurde gezeigt, daß in manchen Fällen aus wachsenden, in Teilung begriffenen Zellen, das Cyanophycin vollständig schwinden kann, während solches in anderen Fällen nicht einzutreten braucht. Es konnte ferner wahrscheinlich gemacht werden, daß ungünstige Ernährungsbedingungen, welche einen Wachstumsstillstand hervorrufen, zur Anhäufung von Cyanophycin in den Zellen führen können.

Daß in den wachsenden Teilen der Thalli von *Peltigera canina* häufig kein Cyanophycin gefunden wird, kann auf denselben Bedingungen beruhen, wie das entsprechende Verhalten der Stärke in den chlorophyllgrünen Gonidien anderer Flechten. Daß mit diesem Hinweis die Kohlehydratnatur des Cyanophycin nicht etwa als bewiesen bezeichnet werden soll, ist selbstverständlich, mag aber im Hinblick auf die flüchtige Behandlung, welcher die Literatur leider vielfach ausgesetzt ist, noch besonders betont werden.

In den hinteren, nach und nach absterbenden Teilen des Thallus von *Peltigera aphthosa* wurden ähnliche Inhaltsverhältnisse der Gonidien

¹⁾ Vergl. Zukal. Untersuchungen über die Flechten. (Sitzungsber. d. k. Akad. d. Wiss., Wien. Math. Naturw. cl. B. CIV. Abt. I, Juni 1895, S. A. p. 25.)

hinsichtlich der Beschaffenheit der Chromatophoren und des Vorkommens fettähnlicher Tropfen im Plasma festgestellt wie in den schlecht ernährten Gonidienkulturen. Worauf in den älteren Teilen des Flechtenthallus die zum Absterben führende Schädigung der Gonidien beruht, bleibt zu untersuchen.¹⁾

Auch die in Azollen lebenden Cyanophyceen pflegen, wenn ihre Wirtspflanzen von hinten nach vorne fortschreitend absterben, gleichzeitig mit den von ihnen bewohnten Teilen des Wirtes zu Grunde zu gehen.

Bei drei untersuchten Sprossen von *Azolla* fand ich in den Anabaenen, welche die Blätter der Triebspitzen bewohnten, nur hier und da einige wenige, sehr kleine Cyanophycinkörner, hingegen in abgestorbenen und auch in noch am Leben befindlichen Blättern der Triebbasen die abgestorbenen und lebenden Anabaenazellen mehr oder weniger cyanophycinreich.

Bei *Blasia* und *Anthoceros* gelang es unter Umständen die Cyanophyceenkolonien absterbender Sproßteile am Leben zu erhalten und weiter zu kultivieren.

Am 12./XI. 1902 gelangten kleine Thallusstücke von *Anthoceros*, welche Nostockolonien enthielten, auf Tonstückchen, welche in Petrischalen lagen, deren Boden teils mit Sachsscher, teils mit Knopscher Nährlösung bedeckt war. Die Nährlösungen hatten einen Zusatz von 1‰ Traubenzucker erhalten. Die Petrischalen standen im Vermehrungshause, vor Verdunstung geschützt. Am 20./III. 1903 waren die Thallusstückchen abgestorben, die Nostockolonien aber am Leben geblieben. Sie ließen sich mit Nadeln aus dem erweichten *Anthoceros*gewebe unschwer befreien und stellten nun Aggregate sehr kleiner Nostockügelchen dar (Fig. 30, 31). Aus lebenden Thallusstücken lassen sich meist nur vereinzelte Zellen oder ganz kurze Fadenstücke freipräparieren. Am 23./III. wurde ein Aggregat kleiner Nostockolonien aus dem abgestorbenen *Anthoceros*gewebe herauspräpariert und auf ein neues Tonstück in eine mit Knopscher Nährlösung beschickte Petrischale übertragen. Gegen etwaige Verunreinigungen waren die üblichen Maßregeln ergriffen. Am 30./V. hatte sich die Oberfläche des Tonstückes dicht mit kleinen Nostockügelchen bedeckt. Sie bestanden aus sehr enggewundenen Fadenknäueln mit gemeinsamer Gallerthülle.

In jungen Blattohren lebender *Blasiensprosse* läßt sich die Algenkolonie im unverletzten Zustande insoweit durchblicken, daß man das Vorhandensein ganz locker verschlungener Fäden erkennen kann. Fig. 32 zeigt freigelegte Fadenstücke, die Fäden werden nicht von gemeinsamen

¹⁾ Vergl. A. Elenkin, Zur Frage der Theorie des Endosaprophytismus bei Flechten und die hier zitierte Literatur. (Bull. du jardin imp. botanique de St. Pétersbourg T. II. Livraison 3, 1902.) G. Lindau, Die Beziehungen der Flechten zu den Pilzen, 1895, p. 197.

Gallerthüllen umschlossen. Bei x ist der Zellinhalt eingezeichnet, im peripheren Plasma einige Cyanophycinkörner.

Fig. 33 zeigt Fadenstücke aus einem abgestorbenen Blattohr. Die Isolierung der in den Blattohren eingeschlossenen Algen konnte in der Weise erreicht werden, daß Blasien sprosse in einer Glasdose mit etwas Leitungswasser wochenlang feucht erhalten wurden. Die Sprosse starben ab, ohne irgend welche Bräunung zu zeigen, und nun ließen sich die Algen leicht aus den Blattohren frei präparieren. Sie besaßen ein durchaus gesundes Aussehen, viele in Teilung begriffene Zellen waren vorhanden und außerdem Sporen in verschiedenen Entwicklungsstadien. Die gestreckt-zylindrischen Sporen waren vielfach so angeordnet, daß je zwei Sporen durch eine Grenzzelle getrennt wurden; doch kamen auch andere Anordnungen vor. In den Fadenzellen waren Cyanophycinkörner verbreitet, der Gehalt an Zentralkörnern war gering. Die reifen Sporen waren sehr cyanophycinreich. Gallerthüllen ließen sich nicht nachweisen, auch nicht durch Färbung mit Methylenblau. Demzufolge sind die Algen nicht als *Nostoc* zu bezeichnen, wie das von Leitgeb geschehen ist, sondern zu den *Anabaenen* zu rechnen. Selbstverständlich ist es übrigens möglich, daß Leitgeb in seinen Blasien sprossen andere Cyanophyceen vor sich hatte, als die hier beschriebenen. Nähere Angaben über die Beschaffenheit der Algen fehlen bei Leitgeb.¹⁾ Eine Algenkolonie aus einem abgestorbenen Blattohr, welche am 12./I. in eine Petrischale gelangt war, deren Boden eine dünne Schicht Leitungswasser bedeckte, breitete sich hier unter Wachstum aus, namentlich nachdem das Leitungswasser am 20./II. durch Knopsche Lösung ersetzt worden war. Nach mehrfacher Erneuerung der Nährlösung hatte bis zum 11./V. die *Anabaena* den ganzen Boden der Petrischale überwuchert.

(Die Fig. 34, 35, 36 sind am 28./III. gezeichnet worden; vergl. die Erklärung.)

¹⁾ Leitgeb. Untersuchungen über die Lebermoose, 1. Heft, p. 23, 1874.

Figurenerklärung.

Fig. 1—15, 38 *Nostoc*; 2, 4, 6, 7, 12, 15 lebend; 3 lebend mit Methylenblau gefärbt; 5, 10 Alkohol, Methylenblau; 1, 8, 9, 11, 13, 14, 38 Alkohol, Essigkarmin. 38 mit großem nicht gefärbtem Zentralkorn und drei gefärbten Cyanophycinkörnern in der Peripherie.

Fig. 16—18, 20—25. Gonidien von *Peltigera canina*. 17, 18, 20—24 lebend; 25 lebend mit Methylenblau gefärbt; 16 Alkohol, Essigkarmin.

Fig. 26—29. Gonidien von *Peltigera aphthosa*. 26 Alkohol, Äther, Jod-Choralhydrat; 27—29 lebend.

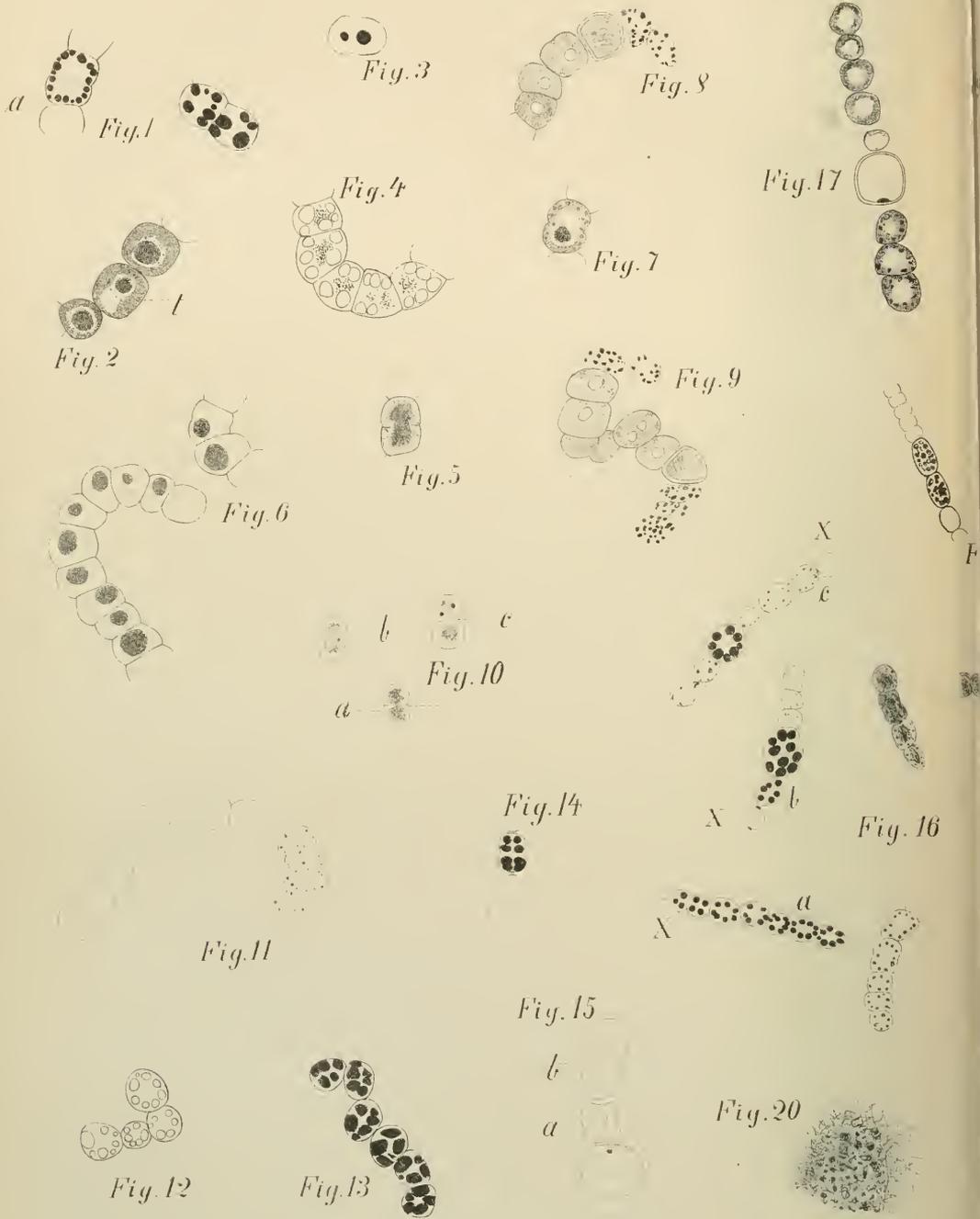
Fig. 30, 31 *Nostoc* aus *Anthoceros*, lebend.

Fig. 19, 32—36 *Anabaena* aus *Blasia*. 19 Alkohol, Essigkarmin; 32—36 lebend; 34 Sporen, 36 Fadenspitze.

Fig. 37. *Anabaena* spec. lebend.

Die Figuren 3, 5, 7, 10, 14, 15, 18, 20—23, 26 sind Skizzen aus freier Hand. 22 und 23 Lupenbilder, 20 mit Ocular periskopisch II, Objektiv I von Seibert entworfen.

Die übrigen Figuren wurden unter Benutzung eines Zeichenapparates entworfen. 1, 2, 4, 6, 8, 9, 11—13, 16, 17, 24, 27—32, 37, 38 mit Objektiv $\frac{1}{12}$ (oelimmersion); 19, 25, 32—36 mit Objektiv V, sämtliche Figuren mit Ocular periskopisch II von Seibert.



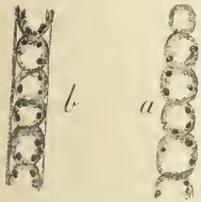


Fig. 21

Fig. 28



Fig. 30

Fig. 31

Fig. 24



Fig. 35

Fig. 29



Fig. 33

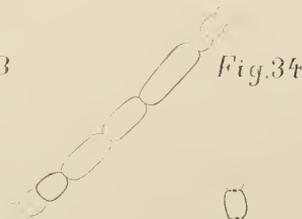


Fig. 34

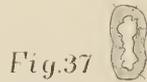


Fig. 37



Fig. 32



Fig. 36



Fig. 38

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Jahrbuch der Hamburgischen Wissenschaftlichen Anstalten](#)

Jahr/Year: 1903

Band/Volume: [21_BH3](#)

Autor(en)/Author(s): Zacharias Eduard

Artikel/Article: [Über die Cyanophyceen. 47-89](#)