

*Nachdruck verboten.
Übersetzungsrecht vorbehalten.*

(Pflanzenphysiologisches Institut der tschechischen Universität in Prag.)

Beitrag zur Kenntnis der Organisation der Cyanophyceen.

Von
Dr. Silvestr Prát.

(Hierzu 3 Textfiguren und Tafel 6.)

Trotzdem die Literatur über die Cytologie der Cyanophyceen in der letzten Zeit wieder bedeutend bereichert wurde, können wir im Verhältnis zur Menge dieser Arbeiten keinen wesentlichen Fortschritt verzeichnen. Und wenn unsere Kenntnisse über die Organisation und Physiologie dieser Organismen namentlich durch die Arbeiten von E. G. PRINGSHEIM, K. BORESCH, G. SCHMID u. a., in denen auch die übrige Literatur angeführt ist, stark gefördert wurden, liegt es daran, daß zu diesen Untersuchungen neue Methoden herangezogen wurden. Dagegen können wir bei Behandlung der cytologischen Fragen nur immer wiederkehrende Mißverständnisse konstatieren. Sicher ist nur, daß die Organisation der Cyanophyceenzelle bedeutend von dem Typus der „normalen“ oder „typischen“ Zellen abweicht, daß die üblichen Präparationsmethoden uns verschiedene Bilder zeigen, deren Deutung ganz nach persönlichem Geschmack — wenn nicht Vorurteil des Untersuchers geschehen kann und in denen man typische Karyokinese sowie Kohlenhydratmitosen mit gleicher Berechtigung sehen kann.

By hardening and staining highly organized animal and vegetable cells in the way that cytologist usually employ, one may obtain preparations which readily reveal the structure of these elements, but the employment of these and other simple methods in the case

of the Cyanophyceae are not at all as fruitful in results (MACALLUM 16). Und doch kann uns nur dieselbe Methode oder Reaktion eine Analogie oder sogar Homologie beweisen. Heute steht fest, daß die gewöhnlichen cytologischen Methoden keine Analogien zwischen Cyanophyceen und „typischen“ Zellen oder sogar Kernteilungen erkennen lassen, obwohl auch die Arbeiten der letzten Zeit wiederum nur mit cytologischen Präparationsmethoden die Ähnlichkeit der Cyanophyceenzellteilung mit primitiver Mitose zu beweisen (DEHORNE) oder abzulehnen suchen (HAUPT).

Die Arbeiten, welche mit einer mehr experimentellen Methodik, die über die üblichen Färbungsmethoden hinaus die Ansichten über die Struktur der Cyanophyceenzelle zu stützen suchten, sind merkwürdigerweise sehr kühl, wenn nicht direkt ablehnend aufgenommen worden. Deswegen entscheidet auch nicht diese Frage in seiner Karyologie TISCHLER und betont, daß hier jedenfalls noch weniger als anderswo „das letzte Wort gesprochen ist“. Da TISCHLER hier das Hauptsächlichste anführt (Literatur) und da in vielen Arbeiten (HEGLER, KOHL, ZACHARIAS 1907, GUILLIERMOND, BAUMGÄRTEL) die ältere Literatur ausführlich besprochen wird, kann ich mich im weiteren nur auf die notwendigsten Literaturangaben beschränken.

In der Literatur findet man mehrfach Angaben über die Veränderlichkeit in der Struktur der Cyanophyceenzelle, namentlich über den wechselnden Gehalt der Zellen an Körnern in verschiedenen Entwicklungszuständen. Hinsichtlich der Zentralsubstanz konnte festgestellt werden, daß ihr Vorhandensein oder Fehlen und ihre Quantität durch die Art der Kultur bedingt sein kann (ZACHARIAS 1890, 15; 1904, 49). J. MASSART (1901) hat gute Abbildungen der Phormidiumfäden unter verschiedenen Ernährungsbedingungen gegeben (pl. II., fig. 12, 13, 14.). Some of the structures are constant, while others may or may not be present, according to conditions which have not yet been definitely determined (GARDNER 259). GUILLIERMOND gibt einige Beispiele verschiedener Struktur in Zellen verschiedenen Alters. „Da aber die Qualität und Quantität der Endoplastensubstanz nicht nur bei den einzelnen Blaualgenarten, sondern auch bei ein und derselben Spezies von Zelle zu Zelle variabel und eine ökologische Funktion ist, so lassen sich all die Widersprüche verstehen, welche bezüglich des Vorhandenseins, der Form, des Baues und der Deutung des Zentralkörpers die einschlägige Literatur so unerquicklich gestalten. Jeder Forscher müßte andere Bilder zu Gesichte bekommen, da ihm anderes und anders beeinflusstes Material vorlag“ (BAUMGÄRTEL 101).

Ich kann hier nicht mehr Fälle, in denen man über die Abhängigkeit der Cyanophyceenstruktur von äußeren Bedingungen spricht, anführen; es wäre auch aus dem Grunde überflüssig, da diese mehr gelegentlichen Beobachtungen nirgends zu bestimmten Resultaten gelangten und weil namentlich in älteren Arbeiten verschiedene Bestandteile der Zellen nicht genügend unterschieden wurden. Es ist sehr merkwürdig, daß dieser Frage so wenig Aufmerksamkeit geschenkt wurde, ja sogar daß nach den angeführten Beobachtungen, die sich mit dieser Frage beschäftigenden Arbeiten direkt abgelehnt wurden. Die Arbeit von MARX wurde von HEGLER abgelehnt, KOHL charakterisiert sie als vollständig unbrauchbar. Auch A. FISCHER hat mehr theoretischen Betrachtungen über Kernplasmarelation oder Chromatophoren (Zentralsubstanzrelation und über die Kernteilungsfrequenz als Kulturen und Experimenten in seinen Arbeiten eingeräumt, wenn er beweisen wollte, daß „Pseudomitosen“ nur Reservestoffe darstellen. Es ist um so merkwürdiger, als man die direkte Abhängigkeit der Organisation und Ausbildung der Cyanophyceenzelle von den Ernährungsbedingungen leicht nachweisen kann. Bevor wir zu dem experimentellen Teil der Arbeit übergehen, sei eine kurze Darstellung der Gliederung einer wohl entwickelten Cyanophyceenzelle gegeben.

Als überall anerkannt kann man die Deutung von CROW (87) anführen: Most writers are agreed, however, and it can easily be demonstrated in the living cell of many forms, that there are three parts, namely the central region, rich in central granules, the peripheral protoplasm containing the pigment and cyanophycin granules, and the cell membrane.

Bei der Deutung und Beschreibung dieser Bestandteile stehen aber die Meinungen einander schroff gegenüber. Die sternförmige Ausbildung der Zentralsubstanz mit zahlreichen feinen Ausläufern hat A. FISCHER (1897) als Artefakt gedeutet. Schon KOHL hat aber bewiesen, daß im Gegenteil kugelige und scharf begrenzte Gebilde durch Zerreißen und Einziehen feiner Äste entstehen und als Artefakte zu bezeichnen sind. Es ist merkwürdig, daß man diese Frage als für alle Cyanophyceen gültig lösen wollte und man kann kaum einsehen, warum bei verschiedenen Spezies, wenn man auch von dem Zustande der Zelle absieht, nicht verschiedene Formen vorkommen sollten. *Nostoc commune* zeigt z. B. bei Vitalfärbung mit Methylenblau sehr schön sternförmig verzweigte Zentralsubstanz, bei *Nostoc ellipsosporum* habe ich aber nur kugelige oder längliche Zentralkörper ohne jede Ausläufer beobachtet. An den Präparaten kann man oft,

z. B. bei *Nostoc commune* sehr schön sternförmige Zentralsubstanz beobachten, wenn man mit LÖFFLER's Methylenblau färbt und mit 1—10 proz. H_2SO_4 differenziert; diese kann aber nach kurzer Erfahrung von der normalen Struktur unterschieden werden und als Artefakt, durch Lösen der Cyanophycinkörner und eventuelle Pseudoplasmolyse entstanden erkannt werden.

In dieser Zentralsubstanz oder Zentralkörper (central body) liegen oft Granula verschiedener Größe und in verschiedener Anzahl (Zentralkörner, Volutin). Deren Verhalten habe ich 1920, II. bei 7 Cyanophyceen (Oscillatoriaceae, *Nostoc*, *Rivularia*) durch 68 mikrochemische Reaktionen charakterisiert und ich brauche hier nicht wieder darauf einzugehen. Weil unter bestimmten — meistens aber abnormalen — Verhältnissen die Zentralsubstanz von den in ihr eingelagerten Körnern schwer zu unterscheiden ist, mögen hier die Differenzierungsmerkmale eingeführt werden:

| | |
|---|--|
| Zentralkörper: | Zentralkörper: |
| Diffus ohne scharfe Begrenzung | scharf begrenzte Körner oder Ringe |
| Methylenblau färbt: | |
| lichtblau | intensiv dunkelblau oder metachromatisch |
| und die Färbung ist in schwachen Säuren | |
| nicht beständig | resistent |

Unterschiede im physiologischen Verhalten (Ernährungsbedingungen) sind weiter im experimentellen Teil angeführt.

Es werden aber noch weitere Fälle beschrieben, die vollständig den Eindruck machen, als ob die Zentralkörner im Zentralkörper zerfließen und die Unterscheidung beider Substanzen sehr fraglich erschien. Deswegen habe ich die Vermutung über die Verwandtschaft der Zentralkörper mit der Zentralsubstanz ausgesprochen (1920), was auch der Ansicht von BAUMGÄRTEL (126), daß „in diesem Zustande sich die Endoplasten in ihrem ganzen Verhalten stark den Epiplasten nähern“ entspricht. Es bleibt aber auch jetzt nur als Vermutung, deren Berechtigung vielleicht erst künftige Untersuchungen beweisen müssen.

Im Chromatoplasma werden hie und da Cyanophycinkörner eingelagert. Diese wurden schon von KOHL genügend mikrochemisch charakterisiert und man kann sie von den Zentralkörnern namentlich durch Färbung und durch geringe Säureresistenz immer schnell und gut unterscheiden. Die Beziehungen dieser Körner zu den Ernährungsverhältnissen bedürfen noch der Erklärung. Einige von meinen, ganz zufälligen Beobachtungen sind in den Tabellen erwähnt. Namentlich die Stickstoffverbindungen scheinen ihre Bildung zu unterstützen.

Zentralkörper.

Schon lange bekanntes Gelbwerden verschiedener Cyanophyceen (P. RICHTER) wurde als Folge des Stickstoffhungers erkannt (BORESCH 1910, 1913, W. MAGNUS — B. SCHINDLER 1912, SCHINDLER 1913). — Bei Oscillariaceen ist der Farbwechsel wohlbekannt. Sporenbildende Cyanophyceen bilden meistens nach Erschöpfung des Mediums die Sporen und die übrig gebliebenen vegetativen Zellen sterben ab. Aber auch unter den Nostocaceen kann man oft gelbe Kolonien beobachten. Ich beobachtete in einer alten *Nostoc*-Kultur ganz gelbe Kolonien von unregelmäßiger Gestalt. Sporen wurden nicht gebildet. Nach Übertragen der Kolonien in feuchte Kammer in 0,01 proz., 0,1 proz. $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, 0,1 proz. KNO_3 konnte ich das Ergrünen der Kolonien unter dem Mikroskope gut verfolgen. Trotzdem das Volumen des Tropfens auf dem Objektträger nicht groß war, ergrüntten die Kolonien in einer Woche vollständig und intensiv. Die Größe und Gestalt der Kolonien, durch Zeichnung (ABBE's Zeichenapparat) kontrolliert, änderte sich dabei nicht. Schon in vivo kann man bei den gelben Kulturen auch Veränderungen in der Zellstruktur beobachten. Während die gelben oder orangefarbigten Cyanophyceenfäden oder Zellen auffällig homogen in besonderem Glanz erscheinen, kann man nach Ergrünen der Zellen und Verlust des Glanzes das Hervortreten verschiedener Strukturen und Granulationen beobachten. Um diese Veränderungen besser verfolgen zu können, habe ich Kulturen verschiedener Alters unter verschiedenen Bedingungen beobachtet. Das Verfolgen alter, erschöpfter Kulturen erscheint mir viel wichtiger und angemessener, als das Erzielen des Hungerzustandes durch direktes Übertragen in arme Medien (dest. Wasser), da bei allmählicher Erschöpfung sich die Zellen dem stetigen Übergange leicht anpassen und die pathologischen Degenerationserscheinungen, die beim Übertragen in reines Wasser oft vorkommen, ausbleiben. Auch Dunkelkulturen stellen gar keine ideale Methode zur Beobachtung der Hungerzustände vor, namentlich bei Pflanzen, die wie vielleicht die meisten Cyanophyceen nicht etiolieren und ohne Licht nicht wachsen. Daß ZACHARIAS durch längere Zeit andauernde Verdunkelung kein allgemeines Verschwinden von Cyanophycin und Zentralsubstanz erzielen konnte, läßt sich dadurch erklären, daß bei eingestelltem Wachstum der Verbrauch an Reservematerialien minimal ist.

Die Einwände, die BAUMGÄRTEL gegen Reinkulturmethoden aufhebt, sind gewiß berechtigt, man muß aber auch bedenken, daß beinahe alle cytologischen Untersuchungen an Bakterien, mit denen man

oft Cyanophyceen vergleicht, an Reinkulturen gemacht wurden, wie auch nicht anders möglich ist. Und wenn einmal festgestellt ist, daß die Organisation der Cyanophyceen weitgehend von äußeren Einflüssen abhängt, kann man nur mit genauen Kulturmethoden, in denen man bekannte Bedingungen absichtlich variieren kann und nicht mit natürlichen Biotypen arbeiten. Meine Kulturen waren nur speziesrein, nicht absolut bakterienfrei, das genügte aber für Versuche mit mineralischer Ernährung vollständig. An den Resultaten änderte sich nichts wesentlich, wenn ich mit Wasserkulturen in flachen bedeckten Schalen, mit Kulturen auf durch Nährlösungen durchtränktem Filtrierpapier oder mit Schrägagarkulturen in Eproutetten (Mineralagar) arbeitete.

Die Veränderungen wurden an Präparaten *in vivo*, in verschiedenen Reagentien, an verschieden gefärbten Total- oder Mikrotompräparaten beobachtet. Als schnellste und bequemste Methode, deren Resultate manchmal alle andere Methoden übertreffen, erwies sich die Lebendfärbung (mit Methylenblau oder Brillantcresylblau). Die Ablehnung der vitalen Färbung durch BAUMGÄRTEL ist nicht vollständig berechtigt. Man kann bei guten Kulturen ganz leicht auch intensiv gefärbte Fäden oder Hormogonien verschiedener Cyanophyceen ohne jede Beschädigung in lebhafter Bewegung beobachten.

Wenn man die Cyanophyceen von alten, durch Aushungerung gelbgewordenen Kulturen zu färben versucht, so gelingt die Lebendfärbung des Zentralkörpers nicht. Erst wenn die Fäden in frischer Nährlösung ergrünt, erscheint der Zentralkörper wieder und wird färbbar.

In einer einige Jahre alten Kultur bildeten die *Nostoc*-Sporen einen gelben bis rosa-orangefarbenen höckerigen Bodenüberzug. Die Sporen wurden am 20. Juli 1918 überimpft und bildeten bald kleine Kolonien, deren Fäden aber bald gelb zu werden begannen. Am 4. September waren neben vegetativen Zellen sehr viele Sporen vorhanden, ein Teil der Thalli wurde in frische Nährlösung übergetragen. Am 6. September ergab die Lebendfärbung mit Methylenblau, wenn die Färbung des Schleimes durch kurzes Differenzieren in 1proz. H_2SO_4 beseitigt wurde: alte Kultur nicht gefärbt, Sporen nicht gefärbt, in der frischen Kultur in der Mitte der vegetativen Zellen lichtblaue Zentralkörper mit einigen kleinen Körnchen. Am 9., 12., 14. September war der Unterschied noch ausgeprägter (in der alten Kultur keine Färbung, in frischer Nährlösung Zentralkörper deutlich gefärbt, Körner größer).

Am 4. Juli 1918 wurde am Boden eines Tümpels bei Szekely-Udvarhely *Phormidium autumnale* als braunrostfarbige bis olivgrüne papierartige Überzüge gesammelt. In braunen Fäden war ein lichter Zentralkörper deutlich, Cyanophycinkörner wurden nicht beobachtet. Am 22. Juli wurden vom trockenen Lager Stücke in Erlenmeyerkolben mit verschiedenen Lösungen übertragen. Die Resultate sind auf Tabelle II zusammengestellt.

Diese Beispiele einer Reihe ganz gleich verlaufender Versuche sollen zur Illustration der Veränderungen in Hungerkulturen und in frischen Nährlösungen, die immer wieder von neuem beobachtet werden konnten, genügen. Bei größeren Oscillariaceen, die man vital sehr gut mit Methylenblau, Methylviolett, Brillantcresylblau färben kann, kann man auch gut verfolgen, wie ein großer und anfangs intensiv sich färbender Zentralkörper nach einiger Zeit kleiner wird und sich schlecht färbt. In gelben Kulturen nimmt nur eine kleine Partie in der Mitte der Zelle die Farbe an, endlich färbt sich nichts mehr, als nur eventuell die Zentralkörner. Wenn man die Fäden dann in frische Nährlösung überträgt, erscheint die Färbbarkeit des Zentralkörpers gewöhnlich gleichzeitig mit dem Grünwerden der Fäden. Soweit einzelne für die Ernährung notwendige Elemente oder Verbindungen das Erscheinen der Färbbarkeit des Zentralkörpers bedingen oder fördern, kann man am besten an beigelegten Protokollbeispielen sehen (Tab. 2). Namentlich der günstige Einfluß der Nitrate und Phosphate erscheint deutlich, Sulfate und Kationen scheinen von untergeordneterer Bedeutung zu sein. Man muß aber achten, daß bei diesen Versuchen die einzelnen Salze nicht in vollkommener Reinheit angewandt werden konnten, da das absolute Ausschließen aller übrigen Verbindungen die Entwicklung überhaupt unmöglich machen würde. Sie waren auch wohl als Reste der alten Kultur, vom Glas, eventuell der Luft anwesend. Es ist aber begreiflich, daß das Wachstum und alle Veränderungen in kompletten Nährlösungen, in denen alle notwendigen Elemente in genügender Menge vorhanden waren, intensiver waren und länger dauerten.

Bei Verwendung konzentrierterer Nährlösungen wurde mit Steigerung der Konzentration immer Vermehrung und Vergrößerung der Körner beobachtet, so daß ich diese abnormale Steigerung der Zentralkörner als Hypervolutinose bezeichnet habe. Aber nicht nur die Zentralkörner wurden vermehrt, sondern auch die Intensität der Färbung des Zentralkörpers hat stark zugenommen (Methylenblau und Brillantcresylblau). Wenn die Cyanophyceen etwa 1 Monat in

konzentrierteren Lösungen kultiviert wurden, flossen große Körner in der Mitte der Zelle zusammen in eine kompakte Masse, die bei der Färbung auffällige Metachromasie zeigte und welche die Unterscheidung der Zentralsubstanz und der Zentralkörner nicht zuließ. Daß es sich in diesen Lösungen wirklich um Ernährungsbedingungen und nicht um Steigerung des osmotischen Druckes in 8–15 prom. KNOP'scher Nährlösung handelte, zeigten die parallelen Versuche mit NaCl. Dieselbe Erscheinung wurde bei *Oscillatoria*, *Phormidium*, *Nostoc* beobachtet.

Man könnte bei der Lebendfärbung einwenden, daß veränderte Permeabilität die Verschiedenheiten in der Färbung bedingt. Aber ganz gleiche Unterschiede zeigten sich nicht nur bei Färbung mit konzentriertem LÖFFLER's Methylenblau, bei Färbung fixierten Materials (nach Alkohol, Formol), sondern auch an den Mikrotomschnitten. Auch Karbolfuchsin, Parakarmin (nach Picrinsäure) färbte gelbe Phormidiumfäden viel weniger, als ergrünte. Auch bei Einwirkung von Pepsin-Salzsäure lassen die Präparate markante Unterschiede beobachten. Bisweilen konnte man auch in Zellen, die sich nicht mehr färbten, glänzende Massen beobachten, oft aber deckten sich beide Methoden und in den Zellen, die sich nicht mehr färbten, war auch nach Einwirkung von Pepsinsalzsäure keine Zentralsubstanz mehr zu entdecken.

Einigemal wurde nach Einwirkung von 0,3 HCL oder Pepsin-Salzsäure kein „Nucleinglanz“ beobachtet; wurden die Fäden aber nach 24stündiger Färbung mit Parakarmin im Glycerin beobachtet, so war das Plasma nur ganz leicht rosa gefärbt, aber in der Mitte war neben den Resten von den Zentralkörnern ein ganz kleiner, etwa $\frac{1}{4}$ der Normalgröße erreichender Zentralkörper gefärbt. Die Kontrollfäden haben während 14 Tage in frischer Nährlösung einen gut färbbaren Zentralkörper gebildet, aber auch das übrige Plasma färbte sich viel intensiver. Dies ist aus dem Grunde wichtig, da diese Tatsache beweist, daß der Zentralkörper nicht deswegen verschwindet, weil er in der Zelle zerfließt.

Bloßes Verschwinden der Färbbarkeit wäre als eine sehr ungenügende Methode zum Beweis des Verschwindens des Zentralkörpers zu bezeichnen. Aber nicht nur verschiedene Färbungsmethoden, auch das Verhalten zu Pepsin-Salzsäure beweisen, daß weitgehende chemische Unterschiede zustande gekommen sind und daß bestimmte Substanzen von den Zellen verschwinden. Es gilt also gewissermaßen: La substance fondamentale existe toujours, mais sa colorabilité varie beaucoup (MASSART, 20). Daß der Zentral-

körper nicht ganz verschwindet, beweisen die Fälle, in denen sich bei Ausbleiben der Vitalfärbung mit Methylenblau an Mikrotomschnitten der Zentralkörper durch DELAFIELD'S Hämatoxylin schwach, aber deutlich färben ließ. Sonst bestehen aber auch bei Mikrotomschnitten alle die Unterschiede, die man an lebenden oder in toto gefärbten Präparaten beobachten kann: schlechte Färbbarkeit der hungernden Kulturen gegen intensive Färbung der frisch überimpften Fäden. Safranin ist zur Cyanophyceen-Färbung wenig geeignet, aber auch in diesem können die Unterschiede beobachtet werden. HEIDENHAIN'S Hämatoxylin färbt sehr gut und die Unterschiede in der Färbung nicht nur des Zentralkörpers, sondern des ganzen Protoplasts sind auffällig. Merkwürdig ist die oft hervortretende Erscheinung, daß benachbarte Zellen und Zellenreihen sich ganz verschieden färben oder die Farbe festhalten, so daß ohne feststellbare Ursache stark gefärbte und fast vollständig entfärbte Zellreihen nebeneinander liegen.

Zentralkörner.

Meine früheren Angaben über das mikrochemische Verhalten der Zentral- oder Volutinkörner möchte ich nur durch einige Angaben über deren Gestalt und Färbung vervollständigen. Namentlich in alten Zellen kommen statt kugelig oder ringförmiger Körper auch solche von ellipsoider oder eiförmiger Gestalt vor. In *Nostoc*-Zellen kann man nach Färbung mit LÖFFLER und Differenzieren mit 1proz. H_2SO_4 auch intensiv gefärbte Körner von einem Lichthof umgeben beobachten; oder intensiv blaue Ringe mit lichtblauem, violetter (ähnlich KOHL, Taf. c Fig. 12, i 4, k 4) oder farblosem Zentrum, auch unregelmäßige Ringe mit einem kleinen Körperchen in der Mitte. Nach Färbung von *Nostoc sp.* mit 1proz. Brillantcresylblau und Auswaschen in Wasser treten im bläulichen Plasma ungefärbte Cyanophycinkörner und in großen Ringen kleine oder größere purpurrote Körnchen auf. Bei *Nostoc*, *Rivularia*, *Tolypothrix* konnte ich auch Ringe, die aus kleinen Körnchen zusammengesetzt waren, ähnlich wie sie REICHENOW für *Haematococcus* angibt, beobachten.

Die Metachromasie, welche für die Zentralkörner charakteristisch ist, versuchte man in verschiedener Weise zu erklären (KUNSTLER et BUSQUET durch physikalische Eigenschaften, Beleuchtung — MASSART durch Verunreinigungen der Farbstoffe, — GUILLIERMOND phénomène d'ordre chimique). Der Ansicht von FISCHER über die Konzentrierung des Farbstoffes (Methylenblau) und reflektiertes Licht

widerspricht die Beobachtung, daß bei Differenzieren in Säuren von den Körnern violette Streifen und Schlieren zerfließen und die Körner immer mehr rot erscheinen. Besonders nach Einwirkung einiger Reagentien (oft nach Quellung) tritt die violette, violettrote bis purpurrote Färbung deutlich hervor (nach 4stündiger Einwirkung 5 proz. Na_2CO_3 , 72stündiger Einwirkung 20 proz. NaCl , 1 proz. KH_2PO_4 , 12 proz. NaOH).

Polychromes Methylenblau (nach UNNA, GRÜBLER) färbte metachromatisch, immer besser in verdünnter als in konzentrierteren Lösungen. Rote Färbung bleibt nach Differenzieren durch 0,1 proz. HCl oder 1 proz. H_2SO_4 , Auswaschen und Entwässern durch Alkohol oder Austrocknen über CaCl_2 und Aufbewahren in Kanadabalsam konstant und unverändert rot. Kleine Körner erscheinen oft blau, große violettrot in blauem Ring. Durch Chloroform kann man von dem polychromen Methylenblau einen violetten Farbstoff ausschütteln. GRÜBLER's Methylenblau färbte die Zentralkörner verschiedener Cyanophyceen blau, bisweilen violett. Von der Substanz oder von 2 proz. wässriger Lösung ging nur wenig an blauem Farbstoff in Chloroform über in unveränderter Farbe und diese blaue Farbe änderte sich auch nach mehr als einer Woche nicht. Wenn aber LÖFFLER's Methylenblau mit Chloroform ausgeschüttelt wurde, wurde die Lösung nach einiger Zeit violett. Wenn zur wässrigen Methylenblaulösung einige Tropfen Ammoniak oder Lauge zugegeben wurden, ging violetter Farbstoff sofort ins Chloroform über. Die Metachromasie von Methylenblau ist also durch Entstehung von Methylenazur bedingt, welche in Methylenblaulösungen, namentlich durch Einwirkung von Alkalien (auch vom Glas) entsteht und von den Körnern elektiv aufgenommen wird.

Die Metachromasie von Methylgrün ist durch Verunreinigung bedingt (coloration variant de vert foncé et en violet, GUILLIERMOND 1903). GRÜBLER's Methylgrün (Essigsäure) färbte große Körner von *Nostoc* schmutziggrün, nach Differenzieren mit 1 proz. HCl rotbraun und zwar infolge der Verunreinigung mit Methylviolett (ein Tropfen auf Filtrierpapier färbte sich im Ammoniakdampf schmutziggrün, ins Chloroform ging violetter Farbstoff über — vgl. PAPPENHEIM 1900, P. MEYER 1917).

Brillantcresylblau (2 prom.) in wässriger Lösung färbte die Körner blau bis rein purpurrot. Dieser Farbstoff eignet sich auch vorzüglich für Schleimfärbungen (z. B. bei *Nostoc* enge purpurrote Scheiden, violetter bis blauer breiter Schleim) und es wäre auch möglich, da sich der Schleim bei verschiedenen *Nostoc*-Arten, *Phor*-

midium- und *Chroococcus*-Spezies verschieden leicht und in verschiedenen Farben färbt, diese Erscheinung auch in der Cyanophyceensystematik auszunützen, wie für *Gongrosira* BRAND beschreibt. Dabei wäre aber zu beachten, daß auch der Schleim sich nach den Ernährungsbedingungen verschieden färben kann und daß z. B. violettgefärbter Schleim von *Nostoc* sp. sich beim Trocknen blau färbte, im Wasser aber wieder die rote Farbe annahm.

Es ist nicht schwer, die Bildung oder das Verschwinden der Zentralkörner in Beziehung zu den Ernährungsbedingungen zu setzen. Mehrmals schon wurde konstatiert, daß Volutin bei der Zellteilung aufgelöst wird (Diatomeen — LAUTERBORN, Hefe — HIERONYMUS, GUILLIERMOND, *Haematococcus* — REICHENOW, Cyanophyceae — MAYER 1904, ZACHARIAS 1907, ACTON u. a.). IWANOFF wollte beweisen, daß das Wachstum immer einen Zerfall organischer Phosphorverbindungen zur Folge hat. In gelben Fäden können die Körner vielleicht jahrelang ausdauern, auch wenn der Zentralkörper schon längst nicht mehr färbbar ist. Am 1. Februar 1918 wurde in einem Erlenmeyerkolben mit 10 ccm MOLISCH's Nährlösung *Oscillatoria splendida?* (von der Erde von Groß Lovčic, Südmähren isoliert) geimpft. Ende Juli begann der Überzug am Boden und den Wänden sich zu verfärben und zwar vergilbten zuerst die Fäden am Glas über der Lösung. Am 31. Juli war fast die ganze Kultur braun bis ocker-orange. LÖFFLER's Methylenblau färbte in jeder Zelle 1—2 Körnchen, keinen Zentralkörper. Im August und später war die ganze Kultur ockerbraun, die Körner färbten sich unverändert noch im September 1919. Es ist nichts Überraschendes, wenn nach Einstellung des Wachstums die Reserven nicht verbraucht werden. Die An- oder Abwesenheit und Menge der Körner (in gelben Cyanophyceen) hängt also von vorgehenden Verbindungen ab, nämlich vom Verhältnis von P-Verbindungen zu den anderen Nährstoffen. Das Verschwinden in Lichtkulturen gegen Ausdauern in Dunkelkulturen (ZACHARIAS 1890) ist wohl mit dem Einstellen des Wachstums in Verbindung. Die Atmung hat gewöhnlich nicht einen Zerfall organischer P-Verbindungen zur Folge (IWANOW).

Die Versuche, mit denen PHILIPPS die Anhäufung von „Chromatin“ in Kulturen von löslichen Phosphaten und Eisen erzielen wollte, wurden von der Kritik abgelehnt (HANNIG 1905, 211; ZACHARIAS 1907). REICHENOW (1910) hat aber die Notwendigkeit der Phosphorverbindungen für Volutinbildung bei *Haematococcus* einwandfrei nachgewiesen, und dasselbe konstatierten HENNEBERG (1916) und M. A. HERWERDEN (1917) bei Hefezellen. Für Cyanophyceen habe ich

(1920, I) die Notwendigkeit der Phosphorverbindungen für die Volutin- oder Zentralkörperbildung gezeigt, hier möchte nur zusammenfassend angeführt werden: In Lösungen ohne P verschwinden die Zentralkörper, oft sterben die Cyanophyceen (*Nostoc* ist besonders empfindlich) ab. Auf diese Weise ist es auch theoretisch vorauszusehen, daß, wenn in der Zelle der Phosphor nur als ein notwendiger Bestandteil des Protoplasten selbst zurückbleibt, er nur mit dem Tode des Protoplasten abgespalten werden kann (IWANOW).

Wenn man Cyanophyceen ohne Zentralkörper in Nährlösungen, in denen P fehlt, überträgt, kann ein färbbarer Zentralkörper erscheinen, die Zentralkörper werden aber nicht gebildet. Wenn man nun Phosphate zugibt, werden sehr viel Körner gebildet. Auch in noch nicht ergrüntem Fäden können bei hinreichender P-Zufuhr Körner gebildet werden (N-Mangel). Alle verwendeten, sowohl löslichen wie schwer löslichen Phosphate waren wirksam. Bei *Oscillatoria splendida* wurde gezeigt, daß Monokaliumphosphat in verschiedenen Konzentrationen die Körnerbildung ebenso begünstigt, wie tertiäres Phosphat, trotzdem das Wachstum in letzterem viel besser ist — alkalische Reaktion (MERTENS). Im Jahre 1890 hat SCHIMPER die Vermutung ausgesprochen, daß gegen die Assimilation von CO_2 , NO_3' , SO_4 die Phosphorsäure auch in nichtgrünem Gewebe und im Dunkeln assimiliert werden kann. Damit stimmt überein, daß *Nostoc* und *Oscillatoria splendida* auch im Dunkeln in P-Lösungen die Zentralkörper bilden konnten.

In bezug auf die Volutinverhältnisse habe ich die Entwicklung der *Microchaete* von Hormogonien und die Keimung der Sporen bei zwei *Nostoc*-Spezies untersucht.

Wenn eine alte Kultur von *Microchaete* (vom Bassin im botanischen Garten isoliert und auf Mineralagar sehr gut wachsend) in frische Nährlösung übergeführt wurde, war das immer Anlaß zu einer sehr lebhaften Hormogonienbildung. Nach 24—48 Stunden schwammen viele Fäden an der Oberfläche des Wassers und es genügte eine Berührung der Kulturoberfläche mit der Fläche des Deckglases, um auf dieser viele Hormogonien zu fangen. Durch Fixieren mit absol. Alkohol oder bloßes Austrocknen hafteten die Fäden am Glase und konnten bequem gefärbt werden. Zuerst waren kurze Fäden (5—15 Zellen) vollkommen gleichartig, polar nicht unterscheidbar, auch die Zentralkörper waren überall gleich verteilt. Schon nach 3 Tagen konnte aber das basale Ende mit fast vollständig mit Volutin vollgepfropfter Heterocyste von der verschmälerten Spitze unterschieden werden; in dieser trat auch bald Körnerverminderung ein. Diese

Unterschiede vergrößerten sich in den folgenden Tagen, der verlängerte Faden differenzierte sich in eine Basalpartie mit niedrigen (quadratischen oder kürzeren Zellen), an den Querwänden eingeschnürten Zellen (tonnenförmig), die reich an Volutin waren (große Körner) und in eine verjüngte Spitze. Die Zellen an dieser waren 2—3 mal so lang als breit, an den Querwänden nicht oder sehr wenig eingeschnürt (cylindrisch), nur hie und da waren in ihnen kleine Zentralkörner. In dieser Zeit waren auch die Heterocysten meistens schon vollständig volutinlos. Auch nach längerer Zeit (2 Monate) war noch die basale Partie reich an großen Zentralkörnern, während in der Spitzenpartie, in der die Zellquerwände ganz undeutlich wurden, nur vereinzelt kleine Körner auftraten. Es wäre hier die Feststellung sehr interessant, ob die von typisch polar ausgebildeten Fäden entstehenden Hormogonien auch polar prädestiniert sind, oder ob erst äußere Einflüsse und eventuell welche die Differenzierung der Fäden bestimmen. Das Licht scheint auch hier, wie so oft eine Rolle zu spielen, nach bisherigen Beobachtungen kann ich aber noch nichts Bestimmteres aussagen.

Alte *Nostoc*-Sporen färbten sich sehr schlecht; wenn bei längerer Einwirkung von konzentriertem Methylenblau die ganze Spore blau wurde, entfärbte sie sich in Essigsäure oder verdünnter Schwefelsäure nur langsam und keine Körner wurden differenziert. Auch durch Wasserblau ließen sich keine Körner anfärben. Nur mit Gram-Gentiana wurde distinkte, alkoholbeständige Körnerfärbung erzielt. Sudan färbte in alten sowie in keimenden Sporen nichts. Nur in noch nicht ausgereiften Sporen waren Zentralkörner gefärbt. Wenn aber alte, vital nicht mehr färbbare Sporen in frischer Nährlösung zu schwellen und zu keimen beginnen, erscheinen die Zentralkörner immer. Schon nach 24 Stunden keimten einige Sporen, in anderen erschienen nur die Körner. Sporen, die sich nicht färben ließen, keimten auch nach einigen Tagen nicht. Vor der Keimung waren in jeder Sporenzelle 1—2 kleine Körner, in keimenden Sporen gewöhnlich ein großes Korn. Auch erste Schwesterzellen hatten immer je ein Korn und kurze entstandene Ketten waren meist sehr volutinreich. Cyanophycinkörner ließen sich in einigen keimenden Sporen mit Wasserblau gut färben, oft waren sie aber nicht vorhanden. Auch mit Methylenblau gefärbte Sporen konnten auskeimen, meistens starben sie aber bald ab. Bei der großen *Nostoc*-Spezies wurde beobachtet, daß von einer Sporenzelle zwei Fäden entstehen können.

Mikrophotographische Untersuchungen mit ultraviolettem Licht.

In den fast 20 Jahren, die die KÖHLER'sche Einrichtung für ultraviolette Mikrophotographie sich im Handel (C. Zeiß, Jena) befindet, wurden seine Vorteile gar nicht ausgenutzt. Ich kann nur an die Arbeit von KRUIS und von KRUIS u. ŠATAVA hinweisen, um zu zeigen, was diese Methode in der Mikrobiologie leisten kann. Durch die Liebenswürdigkeit des Herrn Prof. ŠATAVA ist es mir ermöglicht worden, mit dieser Einrichtung zu arbeiten. Die Methode ist in der Arbeit von KRUIS beschrieben und ich brauche nicht darauf einzugehen. Herrn Dr.-Ing. V. FRIČ muß ich für die Hilfe bei den photographischen Arbeiten meinen verbindlichsten Dank auszusprechen. Für die Photographie habe ich eine Spezieskultur von *Oscillatoria tenuis* (seit 1916 auf Mineralagar kultiviert) und *Symploca muscorum* (Elbetümpel bei Toušeň, Mineralagar) verwendet. Beide Kulturen wurden am 12. Juli 1922 auf frischen Lieske-Mineralagar übergeimpft und bei 10–14° C am Ostfenster kultiviert. Anfangs Dezember waren beide Kulturen braun bis orange-gelb. Am 8. Dezember wurden teils von der alten Kultur, teils von den Kulturen, die vor 6 Tagen auf frischen Mineralagar übergeimpft wurden, die Aufnahmen durchgeführt. Bei Verwendung von Hauff-Extraplatten dauerte die Exposition 25–30 Sekunden. Die unmittelbar belichteten und die nach 2 Minuten Beleuchtung mit ultravioletten Strahlen aufgenommenen Präparate ließen keine merkbaren Unterschiede beobachten. Die Beschädigung durch kurzwelliges Licht fand also entweder sofort (in den ersten Sekunden) statt und schritt dann nicht merklich fort oder die Fäden wurden erst nach längerer Zeit als 3 Minuten sichtbar beschädigt. Länger als 3 Minuten wurden die Präparate nicht belichtet. Später (nach 12 Stunden) wurde Vakuolisierung und Zerfall der Fäden beobachtet; daran war aber auch der notwendig luftdichte Verschluss der Präparate schuld, denn auch in nicht belichteten Präparaten wurde Destruktion beobachtet. Nach der gütigen Mitteilung des Herrn Prof. NĚMEC erwiesen sich andere Cyanophyceen (einzellige) als viel empfindlicher, die Vakuolisierung begann schon nach einigen Sekunden der Beleuchtung mit ultravioletten Strahlen, was auf das verschiedene Verhalten verschiedener Spezies hinweist.

Die Resultate, die ich mit der Photographie mit ultraviolettem Licht bekommen habe, bestätigten vollkommen die Resultate der Färbungsmethoden. Von denselben Kulturen wurden auch Präparate gefärbt, die mit den früher angeführten Resultaten in vollständiger

Übereinstimmung waren: alte Kultur sehr schwach gefärbt, in den frischen Kulturen deutlich gefärbter Zentralkörper mit vielen Körnern. Dasselbe läßt sich auch an den Mikrophotographien mit ultraviolettem Licht beobachten. Die Fäden der alten Kultur absorbieren im allgemeinen viel weniger Licht als die frischen Lösungen, so daß sie viel lichter erscheinen. Ihre Struktur tritt undeutlich hervor und der Zentralkörper ist überhaupt nicht zu sehen. Nur einige Ringkörner treten etwas schärfer hervor.

Bei den Fäden frischer Kulturen kann man größere Absorption beobachten, was man vielleicht mit gesteigerter Färbbarkeit in Parallele setzen kann. Sehr auffällig ist die Lichtabsorption der toten Zellen (Nekriden). In jeder Zelle, die in der optischen Ebene des Mikroskopes liegt, kann man sehr deutlich Zentralkörper beobachten, indem auch die verschiedenartigen und verschiedenartig verlaufenden Bänder und Granulationen hervortreten. Diese Gebilde zeigen sich als Bestandteile jeder tätigen Cyanophyceenzelle und sind also nicht als Fixierungsprodukte und Artefakte zu betrachten. Der Zentralkörper selbst ist ganz offen, von der Plasmaschicht durch keine Membran getrennt. Es läßt sich in der Zelle gar nichts finden, was als eine Homologie des Zellkernes, der im ultravioletten Licht immer mit starker Absorption ausgezeichnet ist und an den Bildern deswegen mit dunkler Färbung hervortritt, bezeichnet werden könnte. Alle Details sind am besten an den beiliegenden Abbildungen nachzusehen. Ich möchte auch darauf aufmerksam machen, daß an der Taf. IV Fig. 11 von KRUIS in den Zellen von *Crenothrix polyspora* deutliche Zentralkörper, aber keine Zellkerne zu beachten sind, ebensowenig kann man in den Zellen von *Beggiatoa (alba?)* etwas finden, was als ein Zellkern gedeutet werden könnte.

Was andere Zellbestandteile betrifft, möchte ich nur die starke Absorption der Cyanophycinkörner für ultraviolette Strahlen anführen, so daß diese an den Kopien als weiße Punkte oder Grana erscheinen.

Das osmotische Verhalten.

Im Jahre 1921 und 1922 habe ich zwei Beiträge über die osmotischen Verhältnisse der Cyanophyceen veröffentlicht. Da beide tschechische Arbeiten schwer zugänglich sind und da das kurze Resumé zum Mißverständnis geführt hat (G. SCHMID, 1923, 389), möchte ich das Hauptsächlichste mit einigen Nachträgen hier wiederholen. Alle Autoren, die Plasmolyse bei Cyanophyceen beobachtet haben, stimmen in dem überein, daß der Protoplast sich niemals

kugelig zusammenzieht, ja selten sich sogar vollständig und allseitig von der Membran trennt. Diesen letzten Fall kann man am besten an den *Nostoc*-Sporen beobachten, aber auch hier kommt nicht die Abrundung, sondern unregelmäßige „Schrumpfung“ des Protoplastes zum Vorschein. Für die Vermutung von BRAND und FRITSCH, daß große Elastizität (Dehnbarkeit) der Zellmembran, eventuell auch festere Verbindung zwischen dieser und dem Plasma dafür verantwortlich ist, hat SCHMID (1923) weitere Belege angeführt. Auch die festere Konsistenz des Cyanophyceenplasmas ist zur Erklärung dieses Phänomenes heranzuziehen.

Manchmal wird der Mangel der Cyanophyceenzellen an wirklichen Vakuolen betont und die Vakuolisierung wird — meistens mit Recht — als Degenerationssymptom betrachtet. Vakuolen, die man in alterndem oder verdunkeltem Materiale findet, kann man nicht immer mit den Endoplasten schleimigen Inhaltes identifizieren (BAUMGÄRTEL). Manchmal handelt es sich um wirkliche Vakuolen mit flüssigem Inhalt, wie ihr Verhalten bei der Plasmolyse — Schrumpfung und Wiederausdehnung bei der Deplasmolyse beweist. Das konnte ich z. B. sehr schön an alten Kulturen von *Tolypothrix* beobachten. Dabei möchte ich erwähnen, daß auch diese stark vakuoligen Zellen ihren Protoplast nicht nur beinahe kugelig, sondern immer ganz unregelmäßig wie bei den Cyanophyceen überall, kontrahierten. Namentlich in der Längsrichtung des Fadens blieben fast immer benachbarte Zellen mit breiten Plasmafortsätzen in Verbindung, was vielleicht in Beziehung zu Plasmodiesmen (KOHL) gesetzt werden kann.

In hypertotonischer Lösung kann zuerst Kontraktion des Fadens (BRAND, PRÁT 1921, SCHMID) ohne beginnende Plasmolyse beobachtet werden, dann beginnt bei den Salzen meist bei den Querwänden an einer oder mehreren Stellen die Trennung des Plasmas von der Membran und weitere Kontraktion des Protoplasten, die man als Schrumpfung bezeichnen kann. Bald setzt aber wieder die Deplasmolyse ein (Kontraktion und Expansion folgen aufeinander ohne Zwischenpause (SCHMID 1923, 396) und alle Stadien werden in umgekehrter Richtung durchgemacht. Bemerkenswert war dabei, daß leicht permeierende Plasmolytica (Salze mit einwertigen Kationen) zuerst an den Querwänden linsenförmige Spalten zwischen den Zellen entstehen ließen, schwer permeierende ($MgSO_4$, Zucker) im Gegenteil zuerst den Protoplast von den Längswänden trennten (vgl. SCHMID 1921, Fig. 12).

Sehr bemerkenswert ist die polare oder „periodische“ Plasmolyse

lysierfähigkeit. Wie überall, kann man auch bei der Plasmolyse der Cyanophyceen Unregelmäßigkeiten und Unterschiede in der Plasmolyse nicht nur bei verschiedenen Fäden, sondern auch bei verschiedenen Zellen eines und desselben Fadens beobachten. Aber ganz regelmäßig kann man feststellen, daß bei *Oscillatoria* und *Phormidium* die Endzellen (Nachbarzellen der Apikalzelle) früher plasmolysierten als in der Mitte des Fadens. Das läßt sich kaum mit der Polarfärbung oder Längspermeabilität der Cyanophyceenfäden in Einklang bringen, da auch bei der Deplasmolyse die Endzellen wieder länger in plasmolysiertem Zustande verharrten, als die Mittelzellen; bei größerer Permeabilität müßte auch die Deplasmolyse schneller durchlaufen. Ob dabei auch polare Kontraktion (SCHMID 1923) feststellbar wäre, kann ich nicht angeben. Seltener war die Erscheinung, daß in einem Faden die unplasmolysierten und die kontrahierten Stellen wechselten, und zwar entweder ganz plötzlich ohne Übergänge oder allmählich mit allen Stufen von nicht kontrahierten Zellen bis zu maximaler Kontraktion (Schrumpfung). Auch zu diesen Fällen kann ich Analogien vom Färbungsverhalten anführen. Da aber nicht nur bei Lebendfärbung mit Methylenblau, sondern auch an Mikrotomschnitten solche periodische oder „wellenähnliche“ Färbungsunterschiede beobachtet wurden, kann man sie nicht als durch Permeabilität bedingt betrachten. Daß die Längsrichtung der Färbung nicht nur auf Cyanophyceen beschränkt ist, beweisen die Fälle der polaren Permeabilität (MENGARINI und SCALA). Dasselbe zentripetale Fortschreiten der Farbstoffspeicherung, die für einige Farbstoffe bei Cyanophyceen charakteristisch ist (SCHMID 1923, 366), konnte ich bei *Batrachospermum moniliforme* für Rot R (GRÜBLER) feststellen, wie am besten die beiliegende Abbildung zeigt.

Aus verschiedenen Gründen ist die direkte Bestimmung der plasmolytischen Grenzkonzentration, die mit anderen Pflanzen vergleichbar wäre, bei den Cyanophyceen unmöglich. Um das osmotische Verhalten der Cyanophyceen unter verschiedenen Bedingungen vergleichen zu können, habe ich als Grenzkonzentration diejenige gewählt, in welcher die Plasmolyse innerhalb einer Minute vollständig verschwunden war. Flocken von frischem Material (frisch aus der Natur gebracht oder unlängst überimpfte Kultur) wurden mit einem Platindraht in Schalen, in denen die Plasmolytica in Reihen um 0,2 Proz. abgestufter Lösungen sich befanden, eingetragen und gerührt. Ein mit einer Pipette sofort entnommener Tropfen wurde unter Deckglas beobachtet und der Zustand vor Ablauf der ersten Minute notiert. Wenn in einer Konzentration die Plasmolyse schnell

verschwand, so wurde in um 0,2 Proz. niedrigerer Konzentration gewöhnlich höchstens vereinzelt vorübergehende Plasmolyse beobachtet,

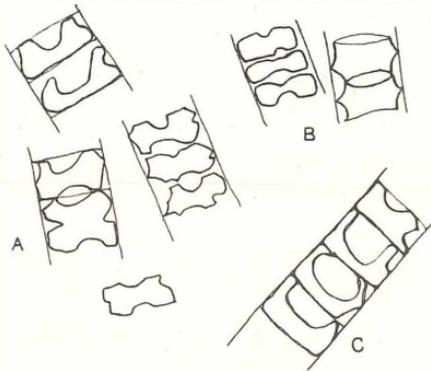


Fig. A.

Fig. A. *Oscillatoria* sp. A, C von 2 prom. Knop'scher Nährlösung. A mit 10proz. NaCl 5 Min. C mit 15proz. Rohrzucker 24 Stunden, plasmolysiert. B von 25 prom. Knop'scher Nährlösung in 10proz. NaCl.

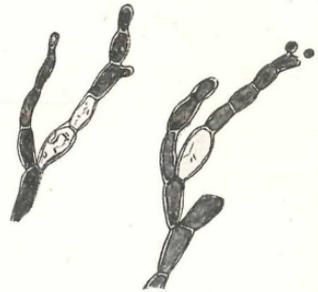


Fig. B.

Fig. B. *Batrachospermum moniliforme*. Färbung mit Rot R.

in der nächst höher folgenden Konzentration dauerte die Depasmolyse länger als 1 Minute. So habe ich die Grenzkonzentration für *Oscillatoria* 1,6—1,8proz. KNO_3 oder 1,0—1,1proz. NaCl festgestellt, bei verschiedenen Oscillarien und *Phormidium* je nach der Art 0,8 bis 1,5proz. NaCl (7—10 Atmosphären) oder 10—13proz. Saccharose. Daß sich diese Werte nicht mit den osmotischen Werten der Zelle vergleichen lassen, habe ich 1920 hinreichend betont (Zentraldruck, Quellungsdruck, Plasmakorrektur, Adhäsion, Permeabilität).

SCHMID hat statt dieser maximalen¹⁾ die minimale (eben beginnende) Kontraktion als Indi-

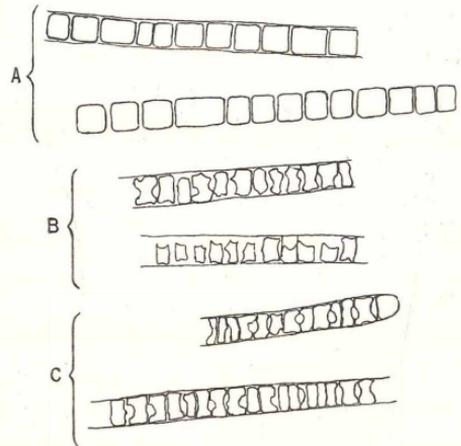


Fig. C. *Oscillatoria*.

A Hungerkultur mit 22proz. $MgSO_4$ plasmolysiert.

B 28. August—3. September Nährlösung; mit 22proz. $MgSO_4$ plasmolysiert.

C dieselbe wie B, mit 2 Mol. NaCl plasmolysiert.

¹⁾ Maximale Kontraktion gilt nur für permeierende Plasmolytica, da bei Dauerplasmolyse der Grad der Kontraktion von der Plasmolyticumkonzentration abhängt. Aber auch hier handelt es sich nicht um echte Kontraktion, d. h. bloße Entspannung elastischer Wände, sondern um Schrumpfung und Faltung der Zellmembran.

kator für Grenzkonzentrationsbestimmungen gewählt. RUHLAND und HOFFMANN haben bei *Beggiatoa mirabilis* den Beginn der Einknickung, also einsetzende Plasmolyse bei maximaler Kontraktion als Grenzkonzentration bezeichnet. Ihre Arbeit ist auch mit Rücksicht auf die Cyanophyceen überaus wichtig und es wäre sicher sehr lohnend, auch von diesen Gesichtspunkten (Spaltung der Membran, Molekularvolum und Grenzkonzentration) an Cyanophyceen Versuche anzustellen.

Die Plasmolyse der gelben Fäden von hungernden Kulturen verlief ganz anders. Zur Plasmolyse wurde höhere Konzentration der Salze notwendig, die Kontraktion war immer schwächer als in der Kontrollkultur und die Deplasmolyse setzte früher ein.

Bei den Cyanophyceen kann man auch Pseudoplasmolyse beobachten. Manchmal ist es schwer, diese von der Plasmolyse zu unterscheiden, namentlich wenn bestimmt tote, also pseudoplasmolytierte Zellen nach Übertragen ins Wasser ähnliche „Deplasmolyse“ zeigen wie plasmolytierte Zellen; das wird wahrscheinlich durch Quellung bedingt. Bei einiger Übung kann man aber schon an stärkerer und mehr regelmäßiger Kontraktion, an Lichtbrechung (Glanz) und Farbe des Protoplasten meistens leicht erkennen, wann es sich um Plasmolyse und wann um Pseudoplasmolyse handelt.

Schon FISCHER hat beobachtet, daß die Plasmolyse bei Cyanophyceen ähnlich wie bei Bakterien bald zurückgeht. Ähnliche Verhältnisse, die für Cyanophyceen BRAND bestätigt hat, führt schon 1887 JANSE für Grünalgen und 1896 DREWS für Meeresalgen an.

Wie die Zeit der Deplasmolyse von der Konzentration des Plasmolyticums abhängt, kann folgendes Beispiel zeigen:

| NaCl Proz. | Vollständige Deplasmolyse erreicht nach Minuten: | |
|---------------|--|-----------------------|
| | <i>Oscillatoria</i> sp. | <i>Phormidium</i> sp. |
| 5 | 6 | 1—2 |
| 6 | 11 | 2 |
| 7 | 13 | 3—5 |
| 8 | 15 | 7—8 |
| 9 | 16 | 12—13 |
| 10 | 21 | 20—25 |

Dieses Beispiel illustriert auch den verschiedenen Verlauf der Deplasmolyse bei verschiedenen Spezies. Das gilt aber auch für dieselbe Art unter verschiedenen äußeren Bedingungen.

Ich brauche nicht zu wiederholen (PRÁT 1922, 1924), daß die plasmolytische Methodik keine direkte und einfache Schlüsse auf die Permeabilität zuläßt, doch kann man annehmen, daß bei so schneller Deplasmolyse wie bei Cyanophyceen neben der Quellung

das Eindringen des Plasmolyticums in die Zelle in erster Reihe den Rückgang der Plasmolyse bedingt. Von den Beispielen, die ich 1920 angeführt habe, möchte ich hier nur das Übersichtsresultat reproduzieren:

| | | | | | | | |
|-----------------|--|-----------------|-----------------|--------------------------------|------------------|-----------------|-----|
| | ○ schnelle Deplasmolyse, | | | | | | |
| | + langsame Deplasmolyse, | | | | | | |
| | ++ Deplasmolyse dauert länger als 6 Stunden, | | | | | | |
| | +++ Deplasmolyse dauert länger als 24 Stunden. | | | | | | |
| | Li | K | Na | Mg | Ca | Sr | Ba |
| Cl | + | ○ | + | ++ | ++ | ++ | ++ |
| NO ₃ | | ± | | | | | |
| SO ₄ | | + | +++ | +++ | | | |
| | Cl | NO ₃ | SO ₄ | H ₂ PO ₄ | HPO ₄ | PO ₄ | CNS |
| K | ○ | ± | + | + | ○ | ± | ○ |

Der Verlauf der Plasmolyse in verschiedenen Salzen läßt sich in vollkommene Parallele setzen mit der Plasmolyse von *Spirogyra*, nach bestimmter Zeit immer nach dem Grade der Plasmolyse beurteilt (PRÁT 1922). Da dies auch mit anderen Versuchen und Versuchsreihen übereinstimmt (FITTING, OSTERHOUT, TRÖNDLE, КАХНО u. a.), läßt sich annehmen, daß trotz manchen abweichenden Eigenschaften das Plasma der Cyanophyceen in kolloid-chemischer Hinsicht vollkommene Analogie mit dem Cytoplasma der Pflanzen zeigt.

Als interessante Details dieser Beobachtungen möchte ich nur das auffällig verschiedene Verhalten gegen Na (langsame Deplasmolyse) und K (schnelle Deplasmolyse) hervorheben, Li näherte sich mehr Na, tötete aber viel schneller. Die Plasmolyse in Erdalkalien war beständig, nach längerer Zeit (2 Stunden) und namentlich in konzentrierteren Lösungen (mehr als 0,4 Mol.) erschien plötzliche Deplasmolyse unter Verfärbung der Fäden (Gelbfärbung, später erschienen Phykocyanokristalle).

Merkwürdig war, daß in MgSO₄ nie Deplasmolyse beobachtet wurde, starke Plasmolyse ging binnen 24 Stunden direkt in Pseudoplasmolyse über. In verdünnten Lösungen (0,2—0,3 Mol.) erschien auch die Plasmolyse ganz langsam und im Gegensatz zu allen anderen Salzen konnte längere Zeit fortschreitende Kontraktion beobachtet werden. In dieser Hinsicht ließ sich MgSO₄ nur mit Saccharose vergleichen. Die abweichende Art der Kontraktion in diesen Lösungen habe ich schon erwähnt. Bemerkenswert ist auch die hohe Widerstandsfähigkeit der Cyanophyceen gegen 20 Proz. SrCl₂ im Vergleich mit den Lösungen anderer Salze sowie Vertragen sehr hoher Konzentrationen bei allmählichem Verdampfen der Zuckerlösung.

Von manchen Cyanophyceen ist bekannt, daß sie sehr große Unterschiede im osmotischen Drucke ihres Milieus ohne Schaden vertragen. Diese sind aber meistens für plasmolytische Versuche ungeeignet (Schleim, Scheiden). Zu meinen Versuchen habe ich einige Arten von *Oscillatoria* und *Phormidium*, die alle übereinstimmende Werte ergeben, verwendet. Die Cyanophyceen wurden immer frisch aus der Natur gebracht und nach dem Auskriechen in flachen Schalen wurden Flocken und Netze von den Fäden durch eine Pinzette oder Platinnadel möglichst ohne Wasser übertragen. Die Kulturlösungen waren die Nährlösung von KNOP in steigender Konzentration und etwa isosmotische Lösungen von NaCl. Die Reihe von Lösungen (immer 50 ccm) wurde durch Verdünnung der konzentrierten Lösung bereitet. Nach bestimmter Zeit wurden Fäden mit einer Platinnadel in die Plasmolytica (Abstufung 0,2 Proz.) übertragen und möglichst schnell beobachtet. Wenn mit $MgSO_4$ oder mit Saccharose plasmolysiert wurde, wurde die Plasmolyse nach einer viertel und nach einer halben Stunde beobachtet.

Saccharose konnte als Kulturmedium nicht verwendet werden, obwohl sie für diese Versuche sehr geeignet wäre, da absolute Reinkultur nicht vorlag und die Gefahr der Infektion sehr groß war. Nebendem konnte aber festgestellt werden, daß nach Einwirkung von Saccharose die Deplasmolyse ganz anders (viel schneller als normal) verlief. Die interessante und wichtige Frage des Verhaltens der Cyanophyceen nach Einwirkung verschiedener Kulturmedien wird der Gegenstand weiterer Untersuchung sein.

Das beste Indicium, wie sich die Cyanophyceen an konzentrierte Medien anpassen, war ihre Beweglichkeit. Auch ziemlich konzentrierte Lösungen erlauben gute Bewegung. In NaCl-Lösungen war die Beweglichkeit im Vergleich mit isosmotischen KNOP'schen Lösungen schlechter, aber immer noch lebhaft. In niedrigeren Konzentrationen von KNOP'scher Nährlösung bedeckten die Fäden in einigen Tagen die ganze Oberfläche und die Glaswände, in konzentrierteren Lösungen (mehr als 1 Proz.) blieben sie mehr am Boden. In NaCl war im Gegenteil das Herauskriechen über die Oberfläche mehr in konzentrierteren Lösungen zu beobachten.

Auffällig war die Art des Herauskriechens. Sowohl in KNOP's Lösung wie in NaCl und auch in Saccharose wurden in niedrigeren Konzentrationen (bis zu 1,8—2,5 Atmosphären) Flocken und Büschel von Fäden beobachtet, manchmal in stichelhaarigen Kugeln zusammengeballt; in höherer Konzentration kam dagegen immer ausgesprochen die Tendenz der Fäden einzeln auszukriechen, nie wurden Büschel

oder Netze gebildet. In noch höheren Konzentrationen war jede Bewegung sistiert, entweder reversibel oder die Schädigung schreitet bis zum Absterben weiter, was sich nach Übertragen in normale Kulturbedingungen oder eventuelle Verfärbung der Fäden bald beobachten ließ. Als Grenzwerte für die Bewegung habe ich mehr als 1,5 Proz. Knop, mehr als 1,0 Proz. NaCl und mehr als 13 Proz. Saccharose feststellen (für *Oscillatoria* sp.) können. Der Wert für Saccharose kommt der Angabe von SCHMID, der ohne meine Versuche anzuführen für *Oscillatoria Jenensis* 10—12,2 Proz. Saccharose festgestellt hat, ziemlich nahe.

In jedem Falle konnte Anstieg der Grenzkonzentration mit steigender Konzentration der Nährlösung festgestellt werden. In KNOP'scher Nährlösung wurde in einigen Tagen Gleichgewicht erreicht und die erhöhte Grenzkonzentration, die nach einer Woche festgestellt wurde, änderte sich nach 14—25 Tagen nicht mehr. Bei NaCl konnte dagegen erst später die Erhöhung der plasmolytischen Konzentration beobachtet werden, nach 11 Tagen änderte sich die ursprüngliche Grenzkonzentration in verschiedenen Lösungen fast gar nicht. Erst nach 25 Tagen konnte merklicher Anstieg registriert werden, dafür aber stieg dann weiter die Grenzkonzentration auch nach mehr als einem Monat. Nach längerer Zeit sind dann die Messungen nicht mehr verlässlich, da mit Aushungerung und Gelbfärbung der Fäden, die in nährstoffarmer NaCl-Lösung zur Geltung kommt, auch die veränderte Permeabilität einsetzt. Wenn man die Zeit der Deplasmolyse in bestimmter Konzentration von NaCl vergleicht, kann man feststellen, daß bei den Fäden von konzentrierterer Kulturlösung die Deplasmolyse viel schneller verläuft und dabei sich wiederum als Funktion der Konzentration der Nährlösung zeigt.

Die Regulation des osmotischen Wertes der Zellen in Abhängigkeit vom osmotischen Druck der Kulturlösung kann auf zweierlei Weise zustande kommen. Entweder durch einfaches Permeieren (Diffusion) der Salze von der Kulturflüssigkeit in der Zelle, wie z. B. DREWS für Meeresalgen annimmt. Oder durch eigentliche Anatonose, aktive Produktion der osmotisch wirksamer Verbindungen durch die Lebenstätigkeit der Zelle. Wenn man bedenkt, wie schnell die Plasmolyse der Cyanophyceen zurückgeht, könnte man geneigt sein, die Anatonose der Cyanophyceen nur durch Endosmose der Salze zu erklären. Man muß aber auch beachten: Natriumchlorid permeiert, nach der Schnelligkeit der Deplasmolyse beurteilt, sehr schnell und eben hier war der Anstieg des osmotischen Druckes sehr

spät bemerkbar. Wenn man aber Produktion osmotisch wirksamer Verbindungen in der Zelle selbst annimmt, kann man leicht begreifen, daß in konzentrierteren Lösungen mit Überschuß Überfluß von Nährsalzen (Hypervolutinose!) die Anatonose viel schneller verläuft, als in nährstoffarmer bis nährstoffloser NaCl-Lösung. Auch die Tatsache wäre zu beachten, daß nach den Versuchen von ILJIN unter Einfluß von NaCl-Lösungen die Polysacchride nur wenig in einfache Zucker gespalten werden, was vielleicht auch für das Glykogen der Cyanophyceen gilt.

Zusammenfassung.

Die Struktur der Cyanophyceenzellen ist sehr weitgehend von den Ernährungsbedingungen beeinflusst. Die Färbungsergebnisse stimmen mit den Abbildungen im ultravioletten Licht überein. Wenn man bedenkt, wie streng die Bestandteile des Zellkernes geteilt werden und welche Abweichungen jede Störung dieses Vorganges zur Folge haben, wie streng die Individualität der chromatischen Bestandteile eingehalten wird, muß man gestehen, daß man bei den Cyanophyceen nichts findet, was mit einem Zellkern vergleichbar wäre. Wir müssen uns der Ansicht von NĚMEC anschließen, daß Cyanophyceen durch ihre abweichende Struktur eine Sondergruppe bilden, die gegen übereinstimmende Organisation der Pflanzen und der Tiere isoliert dasteht.

Literaturverzeichnis.

Von der Literatur möchte ich nur das Hauptsächlichste anführen, die übrigen Angaben sind in diesen zitierten Arbeiten nachzusehen.

- BAUMGÄRTEL, O.: Das Problem der Cyanophyceenzelle. Arch. f. Protistenk. Bd. 41 p. 50 1920.
- CROW, W. B.: A critical Study of certain Unicellular Cyanophyceae from the Point of view of their Evolution. New Phytologist Vol. 21 p. 81 1922.
- DEHORNE, A. u. HAUPT, A. W.: Berichte über die gesamte Physiologie Bd. 6 p. 352 1921, Bd. 20 p. 411 1923.
- HARDER, R.: Ernährungsphysiologische Untersuchungen an Cyanophyceen. Zeitschr. f. Bot. Bd. 9 p. 145 1917.
- KRUIS, K.: O mikrofotografickém zobrazování struktur živých mikrobů zvláště jader bakterií, světlem ultravioletým. Rozpr. čes. Akad. Tř. 2 R. 22 1913, 23.
- NĚMEC, B.: Úvod do všeobecné biologie. Anatomie rostlin. Praha 1921.
- PRÁT, S.: Několic poznámek la organisaci Cyanophycei. Rozpr. čes. Akad. Tř. II 1920, 20.
- : K mikrochemii volutinových zrn Cyanophyceí. Ibid. 24.

- PRÁT, S.: Quelques remarques sur l'organisation des Cyanophycées. Bull. internat. de l'Acad. d. Sciences, Prague 1920.
- : Plasmolysa Cyanophycei. Rozpr. čes Akad. Tř. 2 R. 30 1921, 41. Anatonosa Cyanophycei. Ibid. 31 1922, 1.
- : Plasmolyse des Cyanophycées. Régularité de la valeur osmotique des cellules de Cyanophycées. Bull. intern. de l'Acad. de Scienc. de Bohème, Prague 1921, 1922.
- : Vliv výživy na tvoření volutinu. The Action of Different Nutrient Solutions on the Formation of Volutine. Sbornik Klubu přírod. v Praze, 1921/22.
- : Plasmolyse und Permeabilität. I. Biochem. Zeitschr.
- RUHLAND, W. u. HOFFMANN, C.: Beiträge zur Ultrafiltertheorie des Plasmas. Ber. d. math.-phys. Kl. d. Sächs. Akad. d. Wiss. Bd. 76, Leipzig 1924.
- SCHMID, G.: Das Reizverhalten künstlicher Teilstücke, die Kontraktilität und das osmotische Verhalten der Oscillatoria Jenensis. PRINGSHEIM's Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 62 p. 328 1923.
- SWARCZEWSKY, B.: Zur Chromidienfrage und Kerndualismushypothese. Biol. Zentralbl. Bd. 32 p. 435 1912.

Tafelerklärung.

Tafel 6. *Oscillatoria tenuis*.

Mikrophoto im ultravioletten Licht. Oben von der Hungerkultur, unten 6 Tage nach der Überimpfung.

Tabelle I.

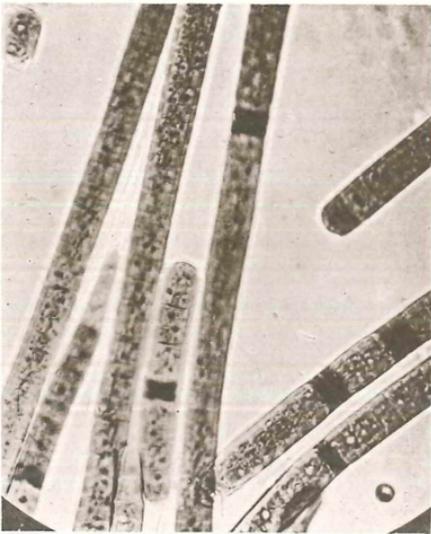
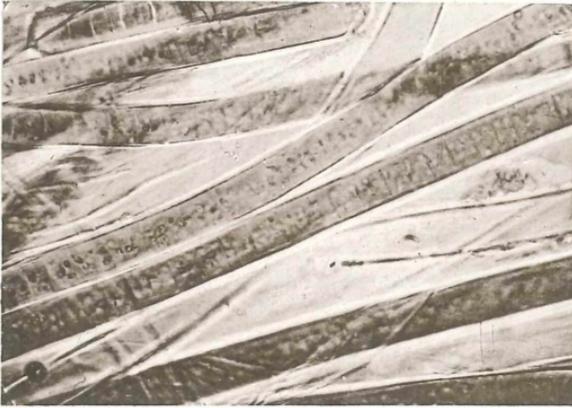
Microcoleus. 3. August in die Lösungen übergetragen.

| | | 4. August | | 6. August | | 13. November | |
|------------------------------------|-----------|--------------------|-----------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| | | Zentral- körper | Jod- färbung | Zentral- körper | Zentral- körper | Zentral- körner | Zentral- körner |
| MgSO ₄ | 1,2 Proz. | ○ | ++ | ○ | abgestorben | | |
| MgSO ₄ | 0,12 „ | ○ | ++ | + | + | + | |
| (NH ₄)HPO ₄ | 0,12 „ | ○ | ++ | ○ | + | ++ | |
| NaNO ₃ | 0,08 „ | + | ++ | ++ | ○ | ○ | |
| Ca(NO ₃) ₂ | 0,1 „ | + | ++ | + | + | ○ | |

Tabelle II.

Phormidium autumnale. 22. Juli 1918 in die Lösungen übergetragen.

| | | Cyano- phycin | Zentral- körper | Zentral- körner | Cyano- phycin | Zentral- körper | Zentral- körner |
|-----------------------------------|--------------------|------------------|--------------------|--------------------|------------------|--------------------|--------------------|
| KNO ₃ | 0,1 Proz. 23. Juli | + | ± | + | 2. Aug. + | ++ | + |
| NaNO ₃ | 0,08 „ | + | ± | + | + | ++ | + |
| Ca(NO ₃) ₂ | 0,2 „ | + | + | + | + | +++ | ○ |
| Nährslg. | | + | + | + | ± | ++ | ± |
| KNO ₃ | 29. Juli | + | +++ | ++ | 16. Aug. ? | + | + |
| NaNO ₃ | | + | + | + | + | + | + |
| Ca(NO ₃) ₂ | | + | ++ | + | + | + | + |
| Nährslg, | | ± | ++ | ++ | ○ | ++ | + |



S. Prát.



Lichtdruck von J. B. Obernetter, München.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Archiv für Protistenkunde](#)

Jahr/Year: 1925

Band/Volume: [52_1925](#)

Autor(en)/Author(s): Prat Silvestr

Artikel/Article: [Beitrag zur Kenntnis der Organisation der Cyanophyceen. 146-165](#)