Nachdruck verboten.
Übersetzungsrecht vorbehalten.

Experimentelle Untersuchungen (Gallertbildung) mit *Mischococcus sphaerocephalus* Vischer.

Von

Wilhelm Vischer.

(Hierzu 40 Textfiguren.)

Mischococcus confervicola ist in kalkhaltigen Gewässern als Epiphyt auf Fadenalgen anzutreffen und bildet die hübschen, seit Naegeli [1]) mehrfach beschriebenen, bäumchenartigen Kolonien. Herr Prof. Senn war so freundlich, mir mitzuteilen, daß er *Mischococcus* früher im Laboratorium gezüchtet, aber stets nur palmelloide Formen ohne die so charakteristischen Gallertstiele erhalten habe. Demnach schien diese Pflanze ein geeignetes Objekt zum Studium der Bedingungen von Gallertausscheidungen überhaupt zu sein. Ich nahm daher einen *Mischococcus* im Sommer 1928 in Reinkultur (Nr. 61 unserer Sammlung; Nr. 503 der Genfer Algothek; auch in der Prager Sammlung), um im folgenden Jahre einige Versuche anzustellen. Die Art erwies sich durch den Bau der Zoosporangien als von *Mischococcus confervicola* verschieden und erhielt den Namen *M. sphaerocephalus.*

Bei *Pseudendoclonium basiliense*, *Stichococcus bacillaris*, *Chlamydomonas pulvinata* [2]) und *Coelastrum proboscideum* [3]) habe ich festgestellt, daß verschiedene Faktoren den Zustand der Gallerte beeinflussen, Temperatur, Elektrolyten usw., und zwar tritt bei einzelnen Arten bald der eine, bei anderen ein anderer Faktor in den Vordergrund.

---

[1]) Naegeli, 1849, p. 80; Borzi, 1895, p. 121; Oltmanns, 1922, Bd. I, p. 26; Pascher, 1925, p. 34.

[2]) Vischer, 1926.

[3]) Vischer, 1927.

Bei *Mischococcus* zeigte sich bald, daß überhaupt die Gallertstiele nur unter ganz bestimmten Ernährungsbedingungen sich entwickeln, und daß der Quellungszustand der einmal gebildeten Stiele kaum beeinflußt werden kann. Demnach befaßt sich die vorliegende Arbeit mit einem etwas anderen Problem als die erwähnten früheren Versuche: nicht die Faktoren, die den physikalischen Zustand der Gallerte verändern, sondern diejenigen, die deren Bildung ermöglichen, wurden in erster Linie untersucht. Hierbei müssen wir uns natürlich stets bewußt bleiben, daß eine zu weitgehende Scheidung der für einzelne Lebensvorgänge maßgebenden Bedingungen unmöglich ist, da jede Veränderung eines einzigen Faktors notwendigerweise die Konstellation der Ernährungsbedingungen in ihrer Gesamtheit beeinflußt.

Einfluß von Nährsalzkonzentration, Stickstoffzufuhr und Assimilatenmenge auf die Ausbildung der Gallertstiele.

KNOP'sche Nährlösung (im folgenden als K $^1/_1$ bezeichnet), auf ein Drittel verdünnt, eignet sich zur Kultur von *Mischococcus* sehr gut (K $^1/_1$ enthält auf 1 l Wasser 0,5 g $Ca(NO_3)_2$, 0,25 g KCl, 0,25 g $MgCl_2$, 0,25 g KH_2PO_4, Spuren Fe, = 0,125 Proz. Nährsalze; K $^1/_3$ = 0,041 Proz).

Gegenüber den in der Natur gefundenen Pflänzchen, sind die Zellen in jungen Kulturen sehr groß und die Chromatophoren zahlreich (Fig. 1). Nach einigen Wochen, je nach den Lichtverhältnissen mehr oder weniger rasch, treten kleinere Zellen auf, sowie die bekannten, charakteristischen Gallertstiele. Doch bleiben diese meist verhältmäßig kurz und dick. Besonders groß sind die Zellen, wenn *Mischococcus* auf K $^1/_3$ mit Agar geimpft wird (Fig. 2 u. 3). Da sich aus einer Mutterzelle meist eine größere Zahl von Tochterzellen entwickeln, so entstehen chlorelloide Zellklumpen, an deren einen Seite der Rest der Mutterzellmembran häufig noch sichtbar ist. Die Tochterzellen sind von einer gemeinsamen schleimartigen Hülle umschlossen (Fig. 16, 38). In dieser Wuchsform erinnert *Mischococcus* sehr an *Botrydiopsis* BORZI. Offenbar haben wir es mit einer Art Jugendform zu tun, die gegenüber den typischen *Mischococcus*-Bäumchen primitiver ist und daher größere Ähnlichkeit mit verwandten Gattungen aufweist als die wohlausgebildete Folgeform. Auf Agar mit K $^1/_3$ wird diese Form lange, über ein halbes Jahr, beibehalten, und typische Bäumchen mit verlängerten Gallertstielen gelangen nicht zur Entfaltung. Die Ursache für das Auftreten der groß-

zelligen Form mit zahlreichen Tochterzellen darf in reichlicher Nährsalzzufuhr gesucht werden.

Um die in der Natur zu beobachtenden Stadien mit Gallertstielen zu erhalten, versuchte ich im Sommer 1929, die Assimilaten-

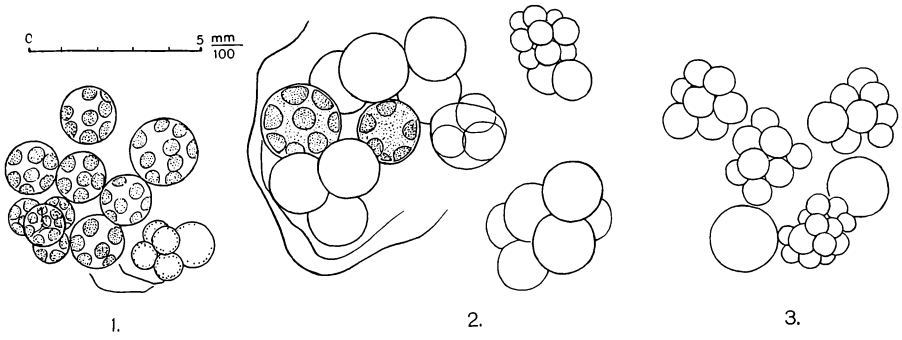

Fig. 1—3: — 1: K $^1/_3$, Nordfenster, nach 4 Monaten; 29. Juni bis 27. Okt. 1929; in derselben Kultur traten auch kurzgestielte Bäumchen auf. — 2: K $^1/_3$ mit Agar, Nordfenster, nach 2 Monaten; Mai bis Juli 1930. — 3: Id. Nach 13 Monaten; Juni 1929 bis Juli 1930.

menge zu erhöhen und impfte je drei Kulturen in Reagenzröhrchen (10 ccm Nährflüssigkeit) mit folgenden Nährlösungen und hing sie an einem Nordfenster auf:

K $^1/_3$ (0,041 Proz.)					
$^1/_{10}$ (0,0125 Proz.)					
„	„	+	1	Proz.	Glukose
„	„	+	2	„	„
„	„	+	4	„	„
„	„	+	8	„	„
„	„	+	0,5	„	Glycerin
„	„	+	1	„	„
„	„	+	2	„	„

Die Konzentrationen dieser Lösungen waren dieselben, in denen andere Algen, wie *Coelastrum*, lebhaft wachsen. Aber es zeigte sich sofort, daß sie für *Mischococcus* zu hoch waren; außer in K $^1/_3$ und $^1/_{10}$ ohne Glukose schien nur in einem Röhrchen mit 0,5 Proz. Glukose im Beginn eine schwache Vermehrung eingetreten zu sein. Bei der zur Kontrolle ausgeführten Wiederholung wurden daher folgende Konzentrationen gewählt (26. Sept. 1929):

K $^1/_{10}$ (0,0125 Proz.)					
„	„	+	0,2	Proz.	Glukose
„	„	+	0,4	„	„
„	„	+	0,8	„	„
„	„	+	1,6	„	„
„	„	+	3,2	„	„

Nur in K $^1/_{10}$ ohne Glukose gedieh *Mischococcus*. Man darf also annehmen, daß die Pflanze gegen Glukose sehr empfindlich ist, ähnlich etwa wie *Haematococcus pluvialis* [1]). Dies steht in Übereinstimmung mit den Angaben aller Forscher, daß *Mischococcus* in der Natur streng katharob ist, zum Unterschied von den *Protococcaceae autosporeae*, die hauptsächlich in Tümpeln mit höherer Nährzalzkonzentration gedeihen [2]).

Am 12. Sept. 1929 waren Kulturen angelegt worden in K $^1/_{20}$ mit Zusatz von Elektrolyten in Konzentration von $^1/_{25}$ normal. Um den Einfluß verschiedener Anionen und Kationen auf die Gallertstiele auszuprobieren [3]), wurden folgende zwei Reihen hergestellt:

K $^1/_{20}$ mit Na_2SO_4, $NaCOOH_3$, NaCl, $NaNO_3$, NaCNS, Na citric.
„ „ KCl, NaCl, $MgCl_2$, NH_4Cl, $CaCl_2$.

Nur in K $^1/_{20}$ ohne Zusatz war die Entwicklung eine kräftige. Mit Salzen war das Wachstum stark gehemmt, und nur palmelloide, zum Teil sehr großzellige Formen traten auf. Offenbar waren die gesamten Ernährungsverhältnisse derart beeinträchtigt, daß von einem bestimmten Einfluß der einzelnen Ionen auf den Zustand der Gallerte nicht gesprochen werden kann.

Hingegen traten in den Kulturen in reiner K $^1/_{20}$ bald recht hübsche, gestielte Bäumchen auf, die den in der Natur beobachteten glichen. Dieses Resultat lud dazu ein, durch Herstellung möglichst natürlicher Umstände, also in schwacher Nährlösung, mit geringer Verschiebung der Nährsalz- und der Kohlehydratzufuhr, die Bedingungen der Gallertstielbildung festzustellen. Hierzu wurden je zehn Kulturen hergestellt in K $^1/_{20}$ und K $^1/_{20}$ + 0,1 Proz. Glukose (26. Sept. 1929). Zu einem Teil dieser Kulturen sollten dann, nachdem die Nährsalze erschöpft waren, frische K oder nur frische Lösung von $Ca(NO_3)_2$ zugefügt werden, um so das Verhältnis von

[1]) CHODAT, 1913, p. 172.
[2]) CHODAT, 1921, p. 110.
[3]) VISCHER, 1926.

Kohlehydraten zu mineralischer, speziell stickstoffhaltiger Nahrung zu beeinflussen.

Die Resultate sind in Fig. 4—13 wiedergegeben, wobei den Zeichnungen zum Teil Resultate früherer Serien zugrunde liegen.

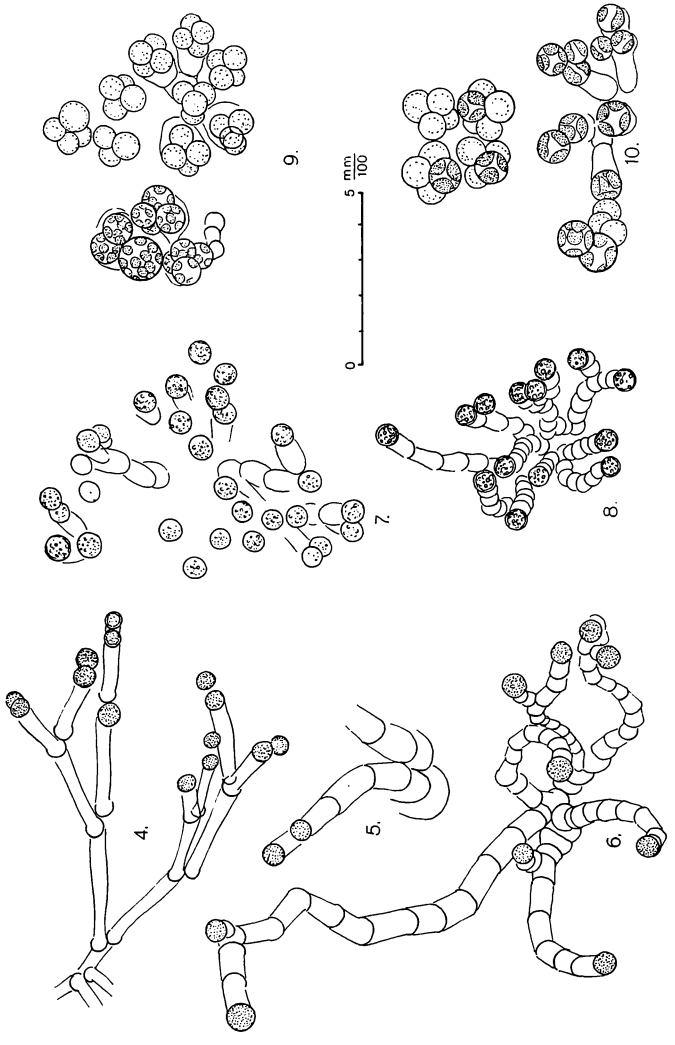

Fig. 4—10: Alle in K $^1/_{20}$, Nordfenster, geimpft 12. Sept. 1929. — 4: Gezeichnet am 25. Nov. 1929. — 5: Am 23. Nov. 1929. — 6: Am 16. Dez. 1929. — 7 u. 8: Am 20. Jan. 1930. — 9: Am 25. Nov. mit $Ca(NO_3)_2$ versehen, gezeichnet am 16. Dez. — 10: wie 9, gezeichnet am 24. Jan. 1930.

Fig. 4—10 zeigen die Entwicklung in K $^1/_{20}$. Die Gallertstiele sind recht lang, die Zellen im Gegensatz zu den in K $^1/_3$ erhaltenen Mastformen klein, hell, mit glänzenden Öltröpfchen gefüllt, so daß die Chromatophoren undeutlich sind. Mit der Zeit tritt eine Abnahme

der Wachstumsintensität ein, und die Kolonien zerfallen (Fig. 7). Bisweilen beobachtet man (Fig. 5, 6, 8), daß die Zellen, anscheinend ohne sich zu teilen, eine Häutung durchmachen und ihrem Gallertstiel ein neues Glied anfügen. Dies sind wahrscheinlich durch Erschöpfung der Mineralbestandteile bedingte Hemmungsbildungen. An der Basis des in Fig. 5 dargestellten Ästchens ist die, wohl sofort nach der Impfung in der frischen Nährlösung entstandene, größere Zellwand zu erkennen.

Ähnlich wie in K $^1/_{20}$ entwickelte sich *Mischococcus* in K $^1/_{20}$ mit 0,1 Proz. Glukose. Nur ist das Wachstum ein ungleich rascheres,

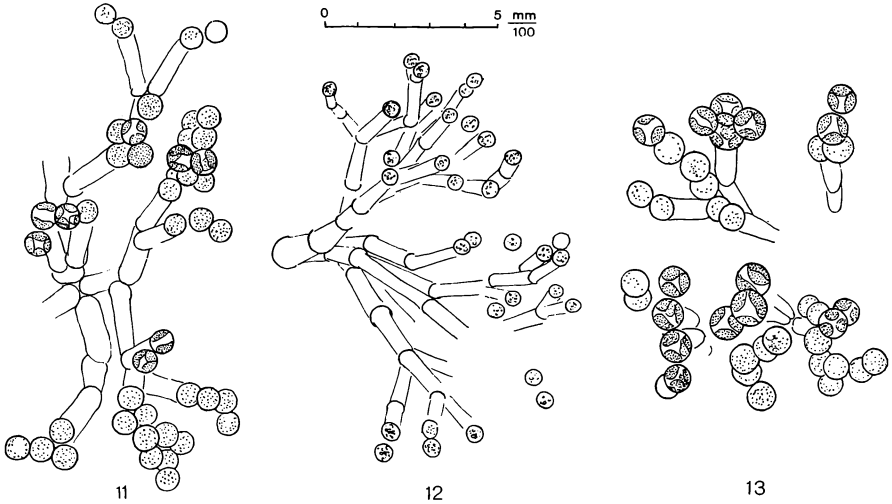

Fig. 11—13: K $^1/_{20}$ + 0,1 Proz. Glukose, Nordfenster, geimpft 26. Nov. 1929. — 11: Gezeichnet am 16. Dez. 1929. — 12: Am 24. Jan. 1930. — 13: Am 28. Jan. 1930 mit frischer Lösung von K versehen, gezeichnet 15. Febr. 1930.

so daß am 16. Dezember, also nach 3 Wochen, die am 26. Nov. 1929 geimpften Kulturen mit 0,1 Proz. Glukose so kräftig aussahen, wie die am 12. September geimpften, also 13 Wochen alten ohne Glukose. Zu Beginn sind die Zellen, gemäß der starken Vermehrung, durchsichtig, die Chromatophoren deutlich (Fig. 11), die Gallertstiele vorhanden. Später, wohl mit zunehmender Erschöpfung der Nährsalze, treten kleinere Zellen mit stark lichtbrechenden Öltröpfchen auf (Fig. 12). Es zeigt sich also deutlich, daß die Gallertstiele von *Mischococcus* eine Folge des Überwiegens kohlehydratreicher, und des Mangels mineralischer Nahrung sind.

In einer Arbeit über *Coelastrum proboscideum* habe ich die Veränderungen der Zellformen während des Alterns der Kulturen verfolgt [1]), ohne darauf einzutreten, ob diese Erscheinung auf Erschöpfung gewisser Nährsalze oder auf Ausscheidungsprodukte der Algen, die etwa hemmend wirken könnten, zurückzuführen ist. Eine Anzahl Versuche mit *Stigeoclonium* zeigten mir seither, daß durch Hinzufügen von etwas N-haltiger Lösung ($Ca(NO_3)_2$, $(NH_4)_2SO_4$, NH_4NO_3 oder organischen Stickstoffverbindungen) diese Wachstumshemmung aufgehoben werden kann. Nach den Untersuchungen von Nakano [2]) ist die in Kulturen oft auftretende Vergilbung ebenfalls durch Mangel an Stickstoff verursacht. Demgemäß war zu erwarten, daß durch erneute Zugabe von Knop, oder vielleicht nur $Ca(NO_3)_2$, *Mischococcus* aus der Bäumchenform mit Gallertstielen wieder in die Palmellaform (d. h. ohne verlängerte Stiele) übergeführt werden kann. Ich gab deshalb zu den ihr Wachstum nach und nach einstellenden Kulturen entweder etwas ganze K $^1/_3$ oder die äquivalente Menge $Ca(NO_3)_2$. In beiden Fälle kann man, wenn auch in etwas geringerem Maße als in frisch geimpften Kulturen, erneutes Wachstum und Ergrünen der Kulturen beobachten und, damit einhergehend, palmelloide Zellklumpen. In Fig. 9 ist links ein Astende gezeichnet mit Überresten kleiner Zellen und mit Gallertstiel. Nach Zufügen von $Ca(NO_3)_2$ entschlüpfen einer Mutterzelle wieder vier anstatt zwei Tochterzellen, und diese sind groß, mit zahlreichen Chromatophoren versehen, durchsichtig, und entbehren der Gallertstiele. Auch in K $^1/_{20}$ mit 0,1 Proz. Glukose wirkt sowohl Zusatz frischer Nährlösung, als $Ca(NO_3)_2$ allein, gleichsinnig; jedoch traten keine eigentlichen Mastformen mit vielen Chromatophoren auf, vermutlich wegen der Anwesenheit von viel Kohlehydrat (Fig. 13). Diese Versuche zeigen also deutlich, daß das Verhältnis von Kohlehydraten zu mineralischen Salzen, und zwar speziell zu den stickstoffhaltigen, von ausschlaggebendem Einfluß auf die Form ist, indem bei Überwiegen der Kohlehydrate Gallerte ausgeschieden wird. Ein Unterschied gegenüber *Coelastrum proboscideum* und den übrigen *Protococcaceae autosporeae* besteht darin, daß *Mischococcus* an viel schwächere Konzentrationen angepaßt ist.

Einfluß der Belichtung auf die Ausbildung der Gallertstiele.

Nun lag es nahe, zu fragen, ob der Einfluß der Glukose durch Belichtung ersetzt werden könne, wodurch die Versuchsanordnung den natürlichen Verhältnissen möglichst weitgehend ent-

[1]) Vischer, 1927. [2]) Nakano, 1917, p. 184.

sprechen würde. Zu diesem Zwecke wurden Kulturen künstlich beleuchtet. Eine elektrische Lampe (225 Volt, 200 Watt, Nitra, bläuliches Glas), in einen mit fließendem Wasser gefüllten Glascylinder eingetaucht, diente als Lichtquelle von 207 Hefnerkerzen (unter Berücksichtigung der Absorption) und brannte Tag und Nacht. Die Kulturgefäße hingen in einer Entfernung von 8, von 35, von 75 und von 140 cm von der Lampe. Bei 8 cm Entfernung erhielten sie etwa 32000, bei 35 cm 1700, bei 75 cm 360 und bei 140 cm etwa 100 Lux. Die Temperatur des Kellerraumes hielt sich ziemlich konstant auf etwa 15° C. Die gewählten Konzentrationen der Nährlösungen betrugen $^1/_3$, $^1/_{10}$ und $^1/_{20}$ K. Der Versuch begann am 20. Sept. 1930. Herr Privatdozent Dr. F. BÜRKI hatte die Freundlichkeit, die Belichtungsverhältnisse zu messen; ich spreche ihm für seine Bemühung den besten Dank aus.

Schon 4 Tage nach dem Beginn (24. September) zeigten sich deutliche Unterschiede in der Wachstumsintensität bei verschiedener Belichtung und in verschiedenen Konzentrationen. Weitaus am raschesten wuchsen die Kulturen nahe dem Lichte, sehr schwach die in 75 cm Entfernung; bei gleicher Entfernung waren die in K $^1/_3$ stark gefördert; die in K $^1/_{20}$ und 75 cm Entfernung waren überhaupt erst nach 3 Wochen sichtbar. In K $^1/_3$, starker Beleuchtung, trat von Anfang an die gestielte Bäumchenform (Fig. 14) mit etwas granulierten Zellen auf; in mittlerer (35 cm) Beleuchtung waren die Gallertstiele deutlich kürzer (Fig. 15), und in schwacher (75 cm) (Fig. 16 u. 17) hatte die Vermehrung eben erst begonnen; die Zellen waren größer und Stiele kaum vorhanden. Mit der Zeit verschwanden aber die Unterschiede mehr und mehr, und schließlich kamen auch in Entfernung von 75 cm Bäumchen mit ziemlich langen Stielen zur Ausbildung. Offenbar genügte auch diese schwache Lichtintensität, um, trotz reichlicher organischer Nahrungszufuhr, das für das Zustandekommen der Bäumchen nötige Gleichgewicht von Assimilaten zu Mineralbestandteilen herzustellen. In der sehr großen Entfernung von 140 cm und dementsprechend schwachen Belichtung von 100 Lux war das Wachstum außerordentlich schwach, und nach einem Monat war mit der Lupe eben noch schwache Entwicklung zu erkennen, in den noch etwas weiter entfernten Gefäßen jedoch nicht mehr. Verlängerte Gallertstiele gelangten nicht mehr zur Ausbildung (Fig. 18). Die Lichtintensität von etwa 100 Lux darf also als die unterste Grenze betrachtet werden, bei der Wachstum gerade noch möglich ist. In der Natur, bei Konkurrenz mit anderen

Organismen und bei nächtlicher Dunkelheit, wird die Grenze wohl entsprechend höher liegen.

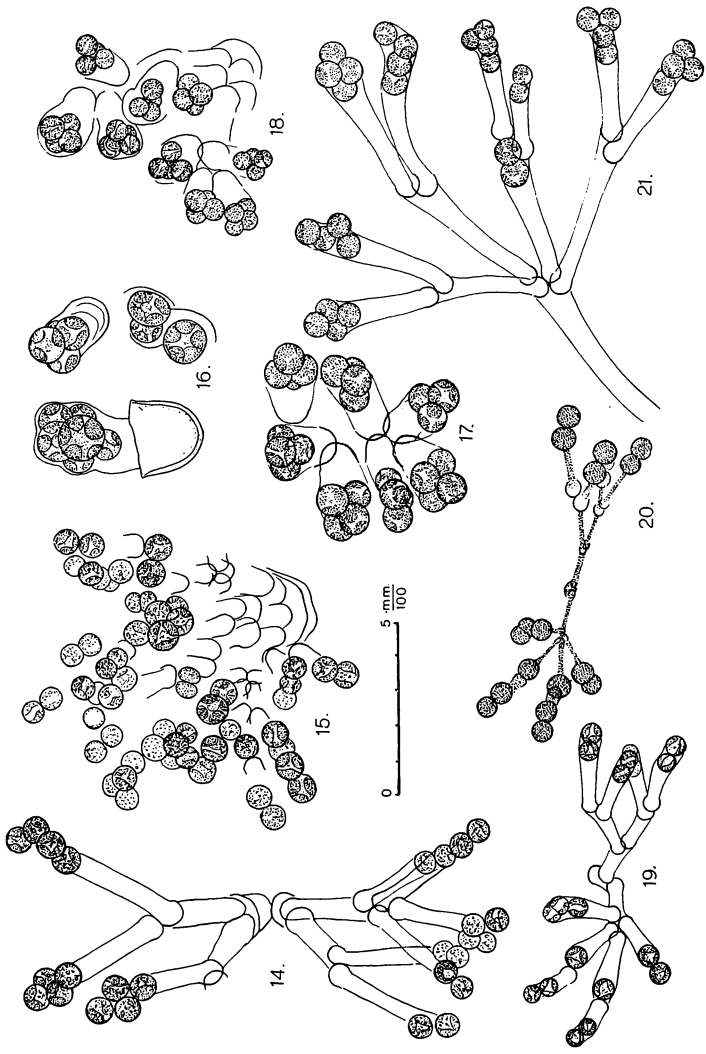

Fig. 14—21: — 14—18: In K 1/3. — 19—21: In K 1/20, alle bei künstlicher Dauerbeleuchtung; geimpft am 20. Sept. 1930. — 14: Nahe der Lichtquelle, 8 cm, gezeichnet 24. Sept 1930. — 15: In mittlerer Entfernung, 35 cm, gezeichnet 24. Sept. 1930. — 16: In großer Entfernung, 75 cm, gezeichnet 24. Sept. 1930. — 17: Id. gezeichnet 26. Okt. 1930. — 18: In sehr großer Entfernung, 140 cm, 16. Okt. 1930. — 19: 75 cm, 20. Okt. 1930. — 20: Id. mit Rutheniumrot. — 21: Id. am 26. Okt. 1930.

Wie zu erwarten, bilden sich auch in schwächeren Lösungen, in denen ja die Ernährungsverhältnisse zugunsten der Assimilate verschoben sind, mit der Zeit ebenfalls in allen Entfernungen Bäumchen mit langen Gallertstielen, wenn auch die Entwicklung bedeutend langsamer ist als in besser ernährten Kulturen (Fig. 19—21).

Als Vergleich möge dienen, daß andere Algen, z. B. *Vaucheria geminata*, *Stigeoclonium* spec., in naher Entfernung von der benützten Lichtquelle bereits negativen Phototropismus zeigten, und auch in großer Entfernung (75 cm) recht üppig gediehen. *Mischococcus* zeigt sich also diesen Arten gegenüber als stark lichtbedürftig.

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß Licht ähnlich wie Glukosezusatz wirkt: starkes Licht fördert, schwaches Licht hemmt die Ausbildung der Gallertstiele. Ähnliches hat BRUNNTHALER für *Gloeothece* beobachtet [1].

Bildung von Zoosporangien, Zoosporen und Keimpflänzchen, verwandtschaftliche Beziehungen.

Auf die Resultate bei mittlerer Lichtintensität (35 cm Entfernung, 1700 Lux) muß besonders eingegangen werden. Das Aussehen der Reagenzgläser wich bald von dem normalen ab. Während gewöhnlich auf der dem Licht abgekehrten Seite, auf die die Lichtstrahlen durch Brechung konzentriert werden, punktförmige Kolonien auftreten, so war hier im Gegenteil die dem Lichte zugewandte Seite der Gläser mit einer sehr gleichmäßigen grünen Schicht vollständig bedeckt. Im Laufe der ersten Wochen wurden keine ausgewachsenen Bäumchen gebildet, sondern schon im jugendlichen Stadium schritten die Pflänzchen zur Anlage von Zoosporangien. Diese zeichnen sich durch ihre Größe vor den vegetativen Zellen aus (Fig. 22 u. 30); im jungen Zustande gleichen sie den großen, in K $^1/_3$ auf Agar beobachteten Zellen, später sind die einzelnen Zoosporen, oft ungefähr 16, selten nur zwei an Zahl, deutlich erkennbar. Hier und da befinden sich in einem Zoosporangium die Zoosporen bereits in Bewegung, und einmal sah ich eine verschleimte Wand innerhalb weniger Minuten allseitig gleichmäßig verquellen und so den Inhalt freilassen (Fig. 30), ähnlich wie dies POULTON für „*Botrydiopsis*“ *minor* beschrieben hat [2]. Die Zoosporen selbst aber waren durch die Verhältnisse unter dem Deckglase geschädigt und bewegten sich nicht mehr weiter. Mehrere Male sah ich unmittelbar nach Auflegen des Deckglases eine Gruppe von Zoosporen, offenbar den eben befreiten Inhalt eines Zoosporangiums, dessen Wand jedoch schon nicht mehr zu erkennen war, dichtgedrängt umeinander kreisen, durch eine schleimige Substanz noch

[1] BRUNNTHALER, 1909, p. 63.

[2] POULTON, 1925, p. 51; nach PETROVÁ, 1931, ist aber „*Botrydiopsis*“ *minor* den *Chlorophyceae* zuzurechnen.

zusammengehalten. Der Radius der Gruppe vergrößerte sich, und plötzlich schwamm eine Zoospore rechtlinig davon, bald folgte eine zweite usf., bis alle sich entfernt hatten.

Es scheint, daß die verschleimende Kugel, ähnlich wie bei *Chlorothecium Pirottae* und *Botrydiopsis arhiza*, nach dem Platzen der Mutterzellwand aus deren Innern hervorgeht; etwa einmal ist noch der Rest der Mutterzellwand zu erkennen (Fig. 34). Die Gallertkugel der Zoosporangien wäre also homolog den Gallertstielen der vegetativen Stadien.

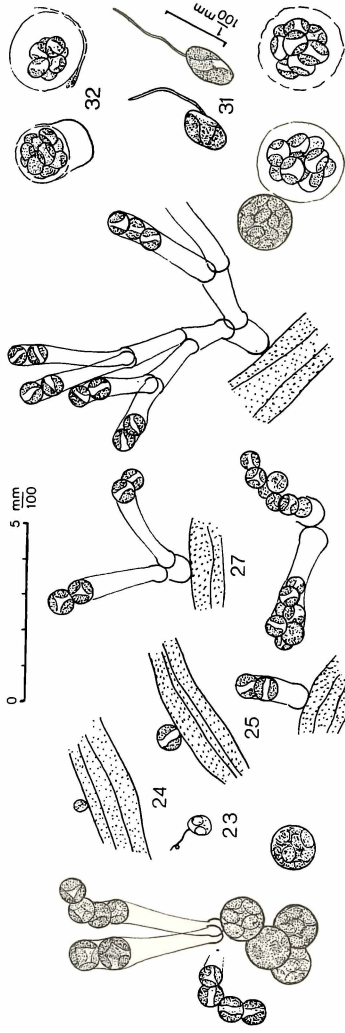

Fig. 22—32: Zoosporen- und Bäumchenbildung bei künstlicher Belenchtung, mittlere Entfernung von der Lichtquelle, 35 cm. — 22: Zoosporangien. — 23: Zoospore, Geißel einziehend. — 24: Festsitzende Zoospore. — 25—29: Keimungsstadien und Bäumchen- bildung. — 30: Zoosporangien, verquellend, aus Kultur K 1/3, 10. Sept. bis 14. Okt. nahe, 14.—17. Okt. mittlere Entfernung. — 31: Zoosporen, mit Osmiumsäure fixiert, stärker vergrößert, siehe Maßstab. — 32: Zoo- oder Aplanosporangien? K 1/3, erst Nordlicht, dann künstliche Beleuchtung, mittlere Entfernung.

Die Zoosporen reagieren positiv phototaktisch, weshalb sie im Glase der dem Lichte zugekehrten Seite zuschwimmen und sich dort festsetzen, so daß an der Glaswand ein feiner, aus dichtgedrängten Keimpflänzchen bestehender Überzug entsteht. Bald gehen diese wieder zur Zoosporenbildung über usf., so daß in den ersten Wochen keine wohlentwickelten Bäumchen gefunden werden. Bemerkenswert ist, daß bei der gegebenen Lichtintensität (1700 Lux), ohne Veränderung der Außenbedingungen, wie Wechseln der Nährlösung, Überführen in Wasser oder Übergang von Hell zu Dunkel,

fortdauernd, während längerer Zeit Zoosporen gebildet wurden, und zwar in verschiedenen Nährsalzkonzentrationen, K $^1/_3$—$^1/_{20}$. Die Zoosporen sind oval, 7—8 μ lang, besitzen zwei durchsichtige Chromatophoren und zwei ungleiche Geißeln, die etwas seitlich inseriert sind. Die kleinere ist nach rückwärts gerichtet und erst nach Färbung mit LÖFFLER's Geißelbeize sichtbar [1]) (Fig. 37). Ein rotes Stigma ist nicht deutlich wahrzunehmen; etwa einmal schien ein solches vorhanden zu sein; bei genauem Zusehen konnte jedoch nur ein stärker lichtbrechendes, winziges Körperchen festgestellt werden, das ungefärbt ist. In diesem Punkte schließe ich mich BORZI an,

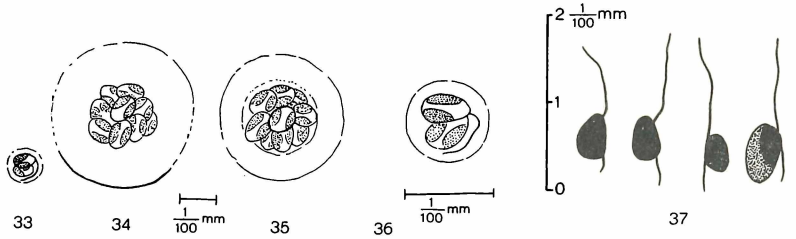

Fig. 33 - 37: Zoosporangien. — 33: Mit zwei Zoosporen in lebhafter Bewegung. — 34: Mit Methylenblau schwach gefärbt, unten Rest der alten Zellwand. — 35: Um die Zoosporen ein Hohlraum sichtbar. — 36: wie 1, stärker vergrößert. — 37: Zoosporen nach Färbung mit LÖFFLER's Geißelbeize.

der von einem farblosen Stigma spricht (stigma achroum) [2]). Daß, wie PASCHER sagt [3]), bei Schwärmerbildung „bereits frühzeitig die tief rotbraunen Augenflecke zu sehen sind", traf in meinen Versuchen jedenfalls nicht zu. Auch weichen die von mir beobachteten Zoosporangien von den von NAEGELI, BORZI und von ihren Nachfolgern abgebildeten durch ihre Größe und durch die gewöhnlich höhere Anzahl der Zoosporen ab. Es gibt, wie mir auch Herr Prof. PASCHER in freundlicher Weise brieflich mitteilt, offenbar mehrere Arten; die hier beschriebene ist durch ihre großen Zoosporangien charakterisiert und soll *Mischococcus sphaerocephalus* genannt werden (Diagnose siehe unten).

Bei späteren Versuchen (Oktober und November 1931) gingen unter den gleichen Bedingungen auch die Pflanzen in geringer (8 cm) und größerer (35 cm) Entfernung vom Licht zu Zoosporenbildung

[1]) VLK, 1931, und PETROVÁ, 1931, haben die Methode neuerdings mit Erfolg auf Heterokontenschwärmer angewendet.

[2]) BORZI, 1895, p. 121.

[3]) PASCHER, 1925, p. 33.

über. Demnach wäre die Lichtintensität nicht allein von so ausschlaggebender Bedeutung, wie ich nach den ersten Versuchen angenommen hatte. Vielleicht spielt der Ernährungszustand des Impfmaterials, dessen „Stimmung" eine wichtige Rolle.

Sehr schön kann man in Kulturen, die Zoosporen gebildet hatten, die Entwicklung der Bäumchen verfolgen, besonders wenn Baumwollfasern in die Flüssigkeit gefallen sind, auf denen sich die Zoosporen in großer Zahl festsetzen (Fig. 24—29).

Über die Entstehung der Bäumchen herrscht noch etwas Unklarheit, und meine Beobachtungen stimmen mit der Beschreibung von Pascher [1]) nicht ganz überein: „Der Inhalt der Zelle . . . bildet basal einen Gallertcylinder, der die Zelle emporschiebt, so daß sie schließlich am Ende eines längeren Gallertstieles in diesem steckt. Dann erfolgt Teilung, es bilden sich zwei Zellen, die genau die gleichen Stiele unter sich entwickeln, so daß es jetzt zur Gabelung kommt usw." Ebensowenig trifft die Bemerkung von Oltmanns [2]) zu: „Daß „Verzweigungen" durch Fortschieben zweier Schwesterzellen nach verschiedener Richtung entstehen, ist aus der Figur ohne weiteres zu ersehen." Bei der vorliegenden Art bildet nicht etwa jede Einzelzelle einen Gallertstiel aus, in dessen Ende sie sitzt, sondern bei jeder Zellteilung wird die Gesamtheit der Tochterzellen auf einem gemeinsamen Gallertstiel hinausgeschoben, ohne daß hierbei Gabelung eintritt. Erst bei der nächsten Zellteilung werden wiederum alle Tochterzellen je einer Mutterzelle auf einem Stiele emporgehoben, und es entstehen so viele Gabeläste, als bei der ersten Teilung Tochterzellen gebildet worden sind. An den Enden der Äste liegen jeweilen die Gruppen der jüngsten Tochterzellen. Meine Beobachtungen bestätigen also die schon von Naegeli gegebene Beschreibung [3]). Ein Blick auf Borzi's und meine Figuren wird diese Verhältnisse besser als viele Worte erläutern. Die Klarstellung der Bäumchenbildung ist unter anderem auch deshalb wichtig, weil sich *Mischococcus* dadurch, wie wir sehen werden, an verwandte Gattungen anschließen läßt, nach den erwähnten Beschreibungen jedoch nicht.

Die Gallertstiele sind, je nach den Bedingungen, sehr kurz und breit, so daß die Tochterzellen darin in *Chlorella*-artigen Klumpen liegen (Fig. 1—3, 16, 28 u. 33). Oder sie sind langgestreckt und tragen die Zellen zu zweit oder zu viert. Die Zellen einer Vierer-

[1]) Pascher, 1925, p. 33.
[2]) Oltmanns, 1922, p. 25.
[3]) Naegeli, 1849, p. 81.

gruppe können tetraedrisch oder in einer Linie angeordnet sein, je nach den Wachstumsbedingungen. Inwiefern es sich bei den verschiedenen als Varietäten beschriebenen Formen *bigeminata* SCHMIDLE, *ramosa* SCHMIDLE [1]) usw. um konstante Rassen oder um Standortsmodifikationen handelt, kann erst systematische Reinkultur einer größeren Anzahl Klone zeigen.

Was die Beurteilung der von BORZI [2]) zuerst abgebildeten palmelloiden Form anbelangt, so schließe ich mich ganz der Ansicht von OLTMANNS [3]) an, daß höchstwahrscheinlich eine Verwechselung mit einem anderen Organismus vorliegt. Niemals waren in meinen Kulturen die Zellen oval und an einem Ende zugespitzt, und niemals waren die Tochterzellen übers Kreuz angeordnet, wie auf BORZI's Figuren.

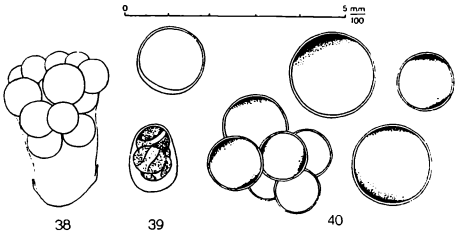

Fig. 38—40: — 38: Ältere Agarkultur mit K 1/3. — 39: K 1/10, erst in naher, dann in mittlerer Entfernung, künstliches Licht. — 40: Ältere Agarkultur mit K 1/3, mit Methylenblau lebend gefärbt.

Die Gallertstiele selbst gehen offenbar durch Verschleimung der Innenseite aus der basalen Hälfte der Mutterzellmembran hervor (Fig. 38). Sie bestehen aus einer pektinartigen Substanz und lassen sich durch Methylenblau oder Ruteniumrot färben, wobei sie stark schrumpfen (Fig. 20). Hingegen können sie in sehr schwacher Farblösung im normalen Zustande beobachtet werden. Wird zu einer großzelligen Kultur, die sich in guter Vermehrung befindet, ganz verdünnte Methylenblaulösung zugefügt, so daß vitale Färbung eintritt, so sieht man häufig, daß der basale Teil der Zellwand dicker ist als der apicale (Fig. 39). Nachdem das Methylenblau eingedrungen ist, erkennt man oft an der basal gelegenen Innenseite der Zellwand eine stark gefärbte Kalotte, in einigen Fällen auch eine etwas kleinere in der apicalen Hälfte (Fig. 40). Nach der Bildung der Tochterzellen ist es offenbar die basale Kalotte der Zellwandinnenseite, die durch Verquellung zum Gallertstiel wird. Was bei der verwandten Gattung *Chlorothecium Pirottae* und bei der *Chlorella*-Form von *Mischococcus* angedeutet ist (vgl. Fig. 17, p. 26, bei OLTMANNS nach BORZI), ist bei der Folgeform

[1]) PASCHER, 1922, p. 36.
[2]) BORZI, 1895, p. 130. PASCHER, 1925, Fig. 24.
[3]) OLTMANNS, 1922, p. 26.

dieses letzteren weiter entwickelt: der gesamte Inhalt einer sich teilenden Mutterzelle wird auf dem aus der Mutterzellwandinnenseite hervorgehenden Gallertstiel emporgehoben. Daß die Bildung der Gallertkugel der Zoosporangien allem Anschein nach ähnlich verläuft, wurde schon erwähnt. Nur konnte ich bei *Mischococcus* nie einen apicalen Deckel beobachten, wie ihn Borzi bei *Chlorothecium* gezeichnet hat. Hingegen mag die eben beschriebene zweite Kalotte an die bei den Heterokonten so verbreitete Zweischaligkeit erinnern. *Mischococcus* läßt sich, wie Pascher [1]) früher angedeutet und neuerdings durchgeführt hat, ungezwungen als spezialisierte Form den *Heterococcales* einreihen oder, nach Printz [2]) zur Familie der *Chlorotheciaceae* stellen. Bei dieser Gelegenheit kann ich nicht umhin, mein Erstaunen darüber auszudrücken, daß Moebius [3]) in der neuesten Auflage des vielbenützten Lehrbuches der Systematik von Warming die Heterokonten einfach aus der Liste der Klassen streicht. Wer irgendwie sich mit dem Problem befaßt hat, wird dies als einen entschiedenen Rückschritt empfinden [4]).

Diagnose.

Mischococcus sphaerocephalus Vischer: Thallus dichotomo-ramosus. Cellulae geminae vel quaternae terminales, globosae, diametro (in liquore nutribili valde diluto) 3—5 μ, chlorophoris 2 (— pluribus) instructae; e cellula matrice 2—4 (— plures) nascentes, stipite vel funiculo mucoso communi, cylindrico, elongato, e basi cellulae matricis prodeunte, diametrum cellularum $\pm$ aequante productae, partitionibus subsequentibus arbusculos constituentes. Zoosporangia globosa, cellulas vegetativas valde superantia (inde nomen), iuvenilia 12—15 μ, matura pariete dilatata 40 μ lata. Zoogonidia 2—16 (an plures?) in unoquoque zoosporangio nascentia, pariete zoosporangii mucosa diffluente liberata, 4—6 μ longa, 3—5 μ lata, subpyriformia vel unilateraliter compressa, flagellis 2 latere insertis, uno corpore 2—3-plo longiore prorsum, altero minore retrorsum directo, stigmate carentia vel stigmate achroo minusculo, chlorophoris 2 instructa.

In variis liquoribus nutribilibus variae formae producuntur, sed status protococcoideus a claro Borzi descriptus numquam visus est et verisimiliter ad huc genus non pertinet.

---

[1]) Pascher. 1925, p. 33; id. 1931, p. 324.
[2]) Printz, 1927, p. 396.
[3]) Moebius, 1929, in Warming-Moebius, p. 41.
[4]) Vlk, 1931.

Differt a *Mischococco confervicola* NAEGELI, cuius zoogonidia singula vel bina in unoquoque zoosporangio nascuntur, zoosporangiis maioribus, zoogonidiis magis numerosis; ab aliis speciebus a claro PASCHER visis, zoogonidiis stigmate rubro carentibus.

Habitat: aquam stagnantem, calciferam, aliis algis, p. e. Oedogonio, affixa, Basileae. Species culta in collectionibus basiliensi, genevensi.

Zusammenfassung.

Eine *Mischococcus confervicola* nahestehende Art wurde in Reinkultur genommen und als *M. sphaerocephalns* beschrieben.

Mischococcus sphaerocephalus gedeiht nur in Nährlösung mit sehr wenig Glukose (bis 0,1 Proz.).

In KNOP'scher Lösung $^1/_3$ bilden sich im Beginn nur chlorelloide Zellklumpen. Erst mit der Erschöpfung der Nährsalze, speziell des Stickstoffes, treten die charakteristischen Bäumchen mit Gallertstielen auf, und zwar um so rascher, je verdünnter die Lösung ist. Glukosezusatz und starke Beleuchtung wirken fördernd auf die Ausscheidung der Gallertstiele; ausschlaggebend ist das Verhältnis von Assimilaten zu mineralischer, speziell stickstoffhaltiger Nahrung.

Bei konstanter künstlicher Beleuchtung (z. B. 1700 Lux) entwickeln sich viele, ziemlich große Zoosporangien mit oft 16 Zoosporen, die durch Verquellen einer Gallertwand frei werden.

Die Zoosporen besitzen zwei, etwas seitlich inserierte Geißeln, eine längere nach vorn und eine kürzere, nach rückwärts gerichtete (Schleppgeißel). Ein roter Augenfleck ist nicht wahrzunehmen.

Die Keimung der Zoosporen wurde genau verfolgt und die Entstehung der bäumchenartigen Kolonien unter Berichtigung einiger Angaben der Literatur beschrieben.

Da *Mischococcus* zahlreiche Anklänge an verwandte Gattungen (*Chlorothecium*, *Botrydiopsis*) zeigt, läßt er sich den *Heterococcales* einordnen. Gegenüber MOEBIUS ist zu betonen, daß die von LUTHER aufgestellte Klasse der Heterokonten als eine durchaus natürliche beizubehalten ist.

Literaturverzeichnis.

Borzi, A. (1895): Studi algologici. Fasc. II. Palermo.

Brunnthaler, J. (1909): Der Einfluß äußerer Faktoren auf Gloeothece rupestris (Lyngb.) Born. Sitz.-Ber. K. Akad. Wissensch. Wien. Math.-naturw. Klasse, Vol. 118, Abt. I.

Chodat, R. (1913): Monographies d'algues en culture pure. Matériaux pour la Flore Cryptogamique Suisse. Vol. 4, Fasc. 2. Berne.

— (1921): Matériaux pour l'histoire des Algues de la Suisse. Bull. Soc. Bot. Genève, 2me série, Vol. 13.

Nägeli, C. (1849): Gattungen einzelliger Algen. Zürich.

Nakano, H. (1917): Untersuchungen über die Entwicklungs- und Ernährungsphysiologie einiger Chlorophyceen. Journ. of the College of Sc. Imp. Univ. of Tokio, Vol. 40.

Oltmanns, F. (1922): Morphologie und Biologie der Algen. Jena.

Pascher, A. (1925): Die Süßwasserflora Deutschlands, Österreichs und der Schweiz. Heterokontae usw., Heft 11. Jena.

— (1931): Systematische Übersicht über die mit Flagellaten in Zusammenhang stehenden Algenreihen usw., Beih. z. bot. Zentralbl. Bd. 48, 2. Abt.

Petrová, J. (1931): Die vermeintliche Heterokonte „Botrydiopsis" minor eine Chlorophycee. Beih. z. bot. Zentralbl. Bd. 48, 2. Abt.

Poulton, E. M. (1925): Etude sur les Hétérokontes. Bull. de la Soc. Bot. de Genève, 2me série, Vol. 17.

Printz, H. (1927): Chlorophyceae, nebst Conjugatae, Heterokontae usw. in A. Engler, die natürlichen Pflanzenfamilien, 2. Aufl. Leipzig.

Vischer, W. (1926): Etudes d'algologie expérimentale. Bull. de la Soc. Bot. de Genève, 2me série, Vol. 18.

— (1927): Zur Biologie von Coelastrum proboscideum und einigen anderen Grünalgen. Verh. d. Naturf. Gesellsch. in Basel, Bd. 38.

Vlk, W. (1931): Über die Struktur der Heterokontengeißeln. Beih. z. bot. Zentralbl. Bd. 48, 2. Abt.

Warming-Moebius (1929): Lehrbuch der systematischen Botanik. Berlin.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Archiv für Protistenkunde

Jahr/Year: 1932

Band/Volume: 76_1932

Autor(en)/Author(s): Vischer Wilhelm

Artikel/Article: Experimentelle Untersuchungen (Gallertbildung) mit Mischococcus sphaerocephaltis Tischer . 257-273