© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

LIBRARY
NEW YORK
BOTANICAL
GARDEN

Kulturversuche mit chlorophyllführenden Mikroorganismen.

II. Mitteilung.

Zur Physiologie der Euglena gracilis.

Von **Ernst G. Pringsheim.**

(Mit Tafel 1.)

A. Vorversuche.

Das Ausgangsmaterial zu den vorliegenden Untersuchungen stammt aus einer Kulturschale, in der sich im Mai 1908 im Breslauer pflanzenphysiologischen Institute eine dicke breiartige Schicht von Euglenen entwickelt hatte. Ich hatte 1½ Jahre vorher zur Gewinnung von Purpurbakterien nach der Methode von Winogradsky ein Rhizomstück von Acorus mit daranhängendem Schlamm in ein großes Glasgefäß gebracht. Viele Monate, nachdem die gewöhnlichen Fäulnisbakterien und Pilze zurückgegangen und auch die dann folgende Vegetation von Purpurbakterien und Beggiatoen fast ganz verschwunden war, traten die Euglenen auf und hielten sich trotz reichlichen Verbrauchs des Materiales für die verschiedensten Versuche viele Wochen lang. Dabei zeigten sich die Euglenen, wenn man etwas von dem breiartigen Auftrieb in frisches Leitungswasser brachte, sehr schön phototaktisch. Die tieferen Schichten der Flüssigkeit in dem Kulturgefäß waren gleichfalls von Euglenen erfüllt, aus denen sich die Oberflächenschicht immer wieder ergänzte.

Da aber mit einem Aufhören der Produktion gerechnet werden mußte, auch manche weitere Frage mich lockte, versuchte ich von dem als *Euglena gracilis* bestimmten Organismus nach der Methode von Zumstein[1]) Reinkulturen herzustellen, um das Material nach Belieben heranzüchten zu können. Diese Methode beruht auf der Widerstandsfähigkeit des genannten Flagellaten gegen Säure, die es erlaubt, die Bakterien fern zu halten. Es soll nun gelingen, von einem Tropfen einer bakterienhaltigen Rohkultur ausgehend, Reinkulturen zu bekommen, wenn zur Weiterzüchtung Nährlösungen benutzt werden,

AUG 7 - 1923

[1]) H. Zumstein, Zur Morphologie und Physiologie der *Euglena gracilis* Klebs. Jahrb. f. wissensch. Botanik, Bd. 34, 1900, S. 149.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

die neben der Säure, [am besten Zitronensäure in Konzentrationen bis zu 2%], z. B. Erbsenwasser, enthalten. Mir ist das nicht geglückt.

Ich ging so vor, daß ich etwas von dem in Leitungswasser phototaktisch angesammelten Materiale entweder unmittelbar in die saure Nährlösung oder in steriles Wasser übertrug und dann mit einer Kapilarpipette unter mikroskopischer Kontrolle einzelne Euglenen herausfischte. Diese wurden dann in die verschiedenen von Zumstein empfohlenen sterilisierten Nährlösungen gebracht. Die Kulturgefäße, hauptsächlich Erlenmeierkölbchen, kamen in gutes Licht. Es hätte wenig Wert, hier alle vergeblichen Versuche zu beschreiben. Nur das Wesentlichste soll hervorgehoben werden.

In den stark saueren Nährlösungen zeigten sich zunächst gar keine Organismen, später aber Faden- und Sproßpilze. Erst wenn diese schon einige Zeit gewachsen waren, traten auch Euglenen auf. In den schwächer saueren Lösungen kamen die Euglenen früher. War nur 1/4% oder noch weniger Zitronensäure verwendet worden, so war die Entwickelung ziemlich üppig, die Pilze herrschten hier nicht so sehr vor. Pilzfreie Kulturen wurden nicht erzielt, auch nicht, wenn mit einzeln herausgefischten Euglenen geimpft wurde. Mir erscheint dieses Ergebnis dem zu entsprechen, was man von vornherein erwarten sollte. Denn wir wissen ja, daß die Bakterien im allgemeinen die neutralen oder basischen, die Fadenpilze und Hefen die mehr oder weniger saueren Flüssigkeiten mit organischen Stoffen zersetzen. Daß es aber gelingen sollte, durch Aufsaugen mit der Pipette die großen Euglenen ohne die überall gegenwärtigen Pilzsporen einzufangen, darf man nicht hoffen. Ich wundere mich, wie Zumstein gearbeitet haben mag, denn daß ihm die Reinkultur gelungen ist, darf man wohl nicht bezweifeln[1]). Von Pilzen aber steht in seiner Arbeit nichts.

Die bei mir auftretenden Schädlinge waren immer dieselben charakteristischen Formen, ein *Penicillium* mit rotem Farbstoff, *Trichothecium roseum,* Hefen und einige weitere, die ich nicht bestimmt habe. In diesen pilzhaltigen Lösungen konnten die Euglenen weiter kultiviert werden, doch war die Methode nicht sehr zufriedenstellend. Ich versuchte daher, schon während der vergeblichen Reinzuchtversuche nach Zumstein, durch Verwendung anderer Nährflüssigkeiten die Erhaltung des für Phototaxisversuche so günstigen Objektes zu sichern. Die gebräuchlichen Nährsalzlösungen gestatten nur langsame Vermehrung, worüber weiter unten berichtet wird. Es wurde

---

[1]) Nur eine Stelle erregt Zweifel. Kulturen in Fleischextraktlösungen sollen nach Zumstein (a. a. O. S. 190) schwer auf die Dauer bakterienfrei zu halten sein. Mir ist das immer gelungen. Wenn eine wirkliche Reinkultur vorliegt, dürfen natürlich in keiner Nährlösung Bakterien auftreten.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

daher versucht, durch Zusatz von weniger üppig ernährenden organischen Substanzen die Euglenen gegenüber den ganz heterotrophen Organismen zu fördern.

Abkochungen oder kalte Auszüge von verschiedenen Pflanzenteilen, z. B. trockenen Fabastengeln, besonders aber Samen, erwiesen sich bei großer Verdünnung als recht geeignet. Durch Zufall kam ich darauf, Samen von *Impatiens parviflora* zu verwenden, die mir gerade in größerer Menge zur Verfügung standen. Es wurden einige Körner davon in Leitungswasser getan und die Euglenen hineingeimpft. Die Flagellaten wuchsen darin recht üppig, so daß vielfach auch die für gutes Gedeihen bezeichnenden schwarzgrünen Häute auftraten. In dieser Nährflüssigkeit wurde die *Euglena gracilis* mit gelegentlichen Abänderungen, wie Nährsalzzusatz, Aufkochen der Samen im Wasser u. dgl., lange Zeit fortgezüchtet, während mich neben anderem Versuche beschäftigten, die mit solchen Rohkulturen ganz gut angestellt werden konnten. Schließlich erwies es sich für die mir vorschwebenden Aufgaben doch als notwendig, Reinkulturen zu besitzen. (Vgl. 1. Mitteilung. Diese Beitr. Bd. XI, S. 306.)

Über einige der Reinkultur vorangehende Rohkulturversuche zur Ermittelung der geeignetsten Anhäufungsmethoden soll hier noch berichtet werden. Sie geben gleichzeitig einige ökologische Anhaltspunkte.

B. Rohkulturen in Aufgüssen von Pflanzenteilen.

I. 4. Februar 1910:

Deckelschalen mit je 200 ccm Flüssigkeit, beimpft mit einem Stück Euglenenhaut.

1. Samen von *Impatiens parviflora* in Leitungswasser.
2. Ebenso mit 0,25% Asparagin.
3. Maiskörner in Leitungswasser.
4. Pfeffersche Lösung, 5 mal so konzentriert als für Wasserkulturen.
5. Ebenso mit 0,25% Asparagin.

Ergebnis am 19. Februar 1910:

1. Am besten, ziemlich grün. Chemotaxis gegen die Samen.
2. Erst viel Bakterien neben wenig Euglenen. Dann waren am 10. Februar 2 Tropfen 5prozentiger Salpetersäure hineingesetzt worden. Darauf alles tot.
3. Annähernd wie 1. Wie dort, aber noch stärker, Ansammlung um die Körner. Schwarzgrüne Flecke auf diesen. Sonst annähernd gleichmäßig verteilt.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

4. Stets dichter grüner Fleck an der Zimmerseite, wo das Licht sich konzentriert, im Gegensatz zu allen Kulturen mit organischen Stoffen.

5. Bakterienhäutchen und Trübung. Nicht sehr große Mengen Euglenen.

II. 18. Februar 1910:

Kleine Deckelschälchen mit 25 ccm Flüssigkeit und wenig Samen, roh.

1. Pisum sativum.
2. Secale cereale.
3. Phaseolus vulgaris.
4. Brassica Napus.
5. Vicia sativa.

Ergebnis 20. Mai 1910:

1. Viel bewegliche und ruhende Euglenen. Letztere ohne Schleimhülle.

2. Euglenen ruhend bekapselt, darin Teilungen, Hülle nach außen verquellend.

3. Tiefgrüne schöne Kultur, fast nur Englenen. Diese meist in Teilung, zu 4 und mehr zusammenhängend.

4. Dicke Pilzhaut, darin massenhaft dicht gedrängte Euglenen. Das Ganze tiefgrün. Euglenen fast alle beweglich.

5. Ähnlich wie 4.

Man sieht aus diesen beiden Versuchen, daß die aus verschiedenen Samen austretenden organischen Stoffe besonders bei längerer Versuchsdauer eine üppige Ernährung bewirken. Ähnlich fielen andere Versuche mit Impatienssamen, Maiskörnern, Fabastengeln u. dgl. aus. Besonders auch die letzteren bewirkten eine so starke Vermehrung, wie ich sie in Reinkulturen nie erzielen konnte.

III. 26. Februar 1910:

Große flache Deckelschalen, beimpft mit Stückchen Euglenenhaut.

1. Impatienssamen in Leitungswasser.
2. = = Pfefferscher Lösung.
3. Trockene Fabastengel in Leitungswasser.
4. = = = Pfefferscher Lösung.
5. Relativ viel Maiskörner in Leitungswasser.

Ergebnis 26. Mai 1910:

1. Kultur von der Seite betrachtet frisch grün, auf einigen Samen wenig weißes Pilzmycel. Dünne, kräftig grüne Haut, aus gut aussehenden Euglenen bestehend, von denen einige in Schleimhülle. Nicht eingekapselte Individuen kriechen dazwischen.

2. Auch schön grün, aber Flüssigkeit nicht so durchsichtig. Dünne Haut. Am Boden dünner grüner Belag von beweglichen Euglenen. Ziemlich unrein.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

3. Dunkelgrüne bis olivgrüne, dicke, teilweise gefaltete Haut, die zum größten Teile aus dick bekapselten Euglenen besteht, von denen einige in Teilung sind.
4. Weniger Hautbildung, aber mehr Schwärmer.
5. Reichlich bewegliche Euglenen.

31. Mai 1910:

1. Prächtige, relativ reine Haut.
2. Nicht annähernd so schön.
3. Die zahlreichen Euglenen sehen nicht sehr gut aus.
4. Nicht günstig für Haut, aber viel Schwärmer.
5. Pilze, in deren Mycel sich die Euglenen verkriechen. Alle beweglich, keine Schleimhüllen.

Es ergibt sich, daß Rohkulturen auf Impatienssamen besonders sauber, solche auf Fabastengeln besonders üppig ausfallen, wohlgemerkt in Mischkulturen mit Bakterien.

IV. 9. November 1910:

In dem folgenden Versuche werden neben den zum Vergleich herangezogenen Impatienssamen und Maiskörnern einige Objekte geprüft, die erfahrungsgemäß eine üppige Entwickelung von Paramaecien erlauben, nämlich:

1. Impatienssamen in Leitungswasser.
2. Maiskörner =
3. Heu =
4. Trockene Resedastengel =
5. Weißbrot =
6. Graubrot, gesäuert =

Ergebnis am 22. November 1910:

1. Viel Euglenen, durch die Flüssigkeit verteilt.
2. Euglenen chemotaktisch an den Körnern angesammelt.
3. An der Fensterseite oben grüner Rand.
4. Viel Euglenen.
5. Gasentwickelung (offenbar Gährung). Kultur trotzdem gut grün gefärbt.
6. Weniger grün.

Man ersieht daraus die Widerstandskraft und Anpassungsfähigkeit der Euglenen, die mit den verschiedensten sich zersetzenden Substanzen vorlieb nehmen.

In der Natur vermehren sich viele Euglenenarten, wie besonders auch Euglena gracilis dort am üppigsten, wo am Grunde von stehenden Gewässern sich Pflanzenteile zersetzen. Doch befinden sie sich dabei vermöge ihrer Phototaxis und negativen Geotaxis stets

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

in der Nähe der Oberfläche, meist also von den faulenden Stoffen entfernt. Um diese Bedingungen nachzuahmen, besonders aber um die Nachdiffusion geeigneter Zersetzungsstoffe trotz räumlicher Trennung von den eigentlichen Fäulnisbewohnern zu ermöglichen, wurden die Pflanzenteile nunmehr auf den Boden hoher Zylinder gebracht und teilweise durch Schichten von Erde und Sand am Aufsteigen verhindert.

V. 9. November 1910:

1. Gekochte gelbe Erbsen in der Tiefe eines Glaszylinders, 25 cm unterm Wasserspiegel.

2. Heu, 5 cm hohe Lage, mit Erde, dann mit Sand bedeckt. Erde + Sand = 5 cm. Darüber noch 15 cm Wasser.

Reichlich mit Euglenen aus Rohkultur beimpft.

Ergebnis am 22. November 1910:

1. Die ersten Tage die Euglenen unten, nach 14 Tagen oben, mit Bakterien gemischt. Eine sich allmählich bildende Haut besteht aus Infusorien, Bakterien, viel Euglenen und isolierten Erbsenzellen voller Stärke. Offenbar ist durch eine Art Pektingährung die Mittellamelle der Cotyledonenzellen aufgelöst.

2. Viel Euglenen, sehen recht rein aus, auch mikroskopisch. Sie halten sich lange Zeit dicht über dem Sande, offenbar chemotaktisch angelockt.

Ähnlich fielen Kulturen mit Erbsen, Heu, Resedastengeln und Lupinussamen aus, bei denen überall Erde und Sand über die Pflanzenteile geschichtet war.

Um die Trennung von faulenden Stoffen und Euglenen noch sicherer zu machen, wurden die ersteren in einer Reihe von Versuchen durch eine Pergamentpapiermembran abgeschlossen.

VI. 21. November 1910:

Zur Verwendung kamen aus Pergamentpapierstoff bestehende Diffusionshülsen von Schleicher und Schüll. Sie wurden über genau passende Glasrohrstücke von 20 cm Länge geschoben und festgebunden. Dieses Gebilde wurde in der durch die Figur 1 veranschaulichten Weise in 600 ccm Erlenmeyerkolben gestellt, die so hoch mit Wasser gefüllt wurden, daß es nicht bis zum Rande des Schlauches reichte. Die Flüssigkeit betrug 400 ccm einer gleichmäßigen Euglenenaufschwemmung aus Impatienskultur in Leitungswasser. Fensterbrett nach Norden. In die Hülsen kamen neben einem Tropfen einer guten Euglenenrohkultur zur Infektion mit geeigneten Bakterien folgende Stoffe in Wasser:

1. gelbe Erbsen roh.
2. " " gekocht.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

3. Samen von Impatiens parviflora, gekocht.
4. Kleine gelbe Maiskörner, gekocht.
5. Weizenkörner gekocht.
6. Albumin aus Eiweiß.
7. Pepton 2½prozentige Lösung.
8. Resedablätter und Stengel.
9. Tropon.
10. Kaffeebohnen gekocht.
11. Am 26. November kam ein Gefäß mit rohem Heu hinzu.

Ergebnisse am 22. November 1910:

1—3. Fast alle Euglenen an der Pergamenthülse unten chemotaktisch angesammelt. 4. Garnicht oder sehr wenig chemotaktisch. 5. Keine Chemotaxis. 6. Chemotaxis. 7. Wie 4. 8. Starke Chemotaxis. 9. Keine Chemotaxis. 10. Chemotaxis.

Es bewirken also gerade die Mais- und Weizenkörner, die, unmittelbar in die Flüssigkeit getan, stark anlocken, hier keine Chemotaxis (vgl. Versuch I u. IV S. 3 u. 5). Offenbar diffundieren aus ihnen viel weniger Stoffe als aus Erbsen etc. Deshalb sammeln sich die Euglenen sonst unmittelbar an ihrer Oberfläche, während an der Außenseite der Hülsen die Reizschwelle nicht erreicht wird.

24. November 1910:

1. Schlauch grün auf der Lichtseite, Wasser schwach trübe.
2. Ebenso.
3. Schlauch nur ganz unten, aber tiefgrün, Wasser fast klar.
4. Gar keine Chemotaxis, Euglenen verteilt, Wasser klar.
5. Ebenso, aber Euglenen am Boden.
6. Schlauch auf der Lichtseite schwach grün, die übrigen Euglenen phototaktisch, Wasser fast klar.
7. Schlauch über dem Wasserspiegel ringförmig schön grün (vgl. Fig. 1). Euglenen bilden auch auf der Fensterseite am Meniskus einen grünen Rand, Wasser klar.
8. Schlauch unter dem Wasserspiegel grün, auch am Glase auf der Lichtseite oben Rand. Wasser trüb, Bakterienhaut.
9. Euglenen am Boden, keine Chemotaxis, Wasser klar.
10. Schlauch unten etwas grün, Wasser leicht getrübt.

27. November 1910:

1. u. 2. Bakterienhäutchen, Schlauch auf der Lichtseite grün, einige Euglenen auch am Schlauch in die Höhe gekrochen, bis 2 cm über die Wasseroberfläche.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

3. Schlauch unten an der Rundung und ganz wenig auch über dem Wasserspiegel grün. Die übrigen Euglenen im Lichtfleck hinten unten phototaktisch angesammelt.

4. und 5. Weder Photo- noch Chemotaxis.

6. Keine Bakterien außen sichtbar, sonst wie 1. und 2.

7. Schön grüner Ring über dem Wasserspiegel am Schlauch, einige auch an der Fensterseite am Meniskus, viele im Lichtfleck hinten, Flüssigkeit schön klar!

8. Dickere Bakterienhaut als bei 1. und 2. Schlauch erweist sich beim Herausheben aus der trüben Flüssigkeit auf der Lichtseite grün.

9. Schwacher Ring am Schlauch über dem Wasser und am Meniskus. Die übrigen Euglenen phototaktisch hinten. Wasser klar.

10. Schwaches Bakterienhäutchen. Flüssigkeit bräunlichgrün. Euglenen schwach phototaktisch, am Schlauch keine.

11. Euglenen chemotaktisch unten am Schlauch. Im übrigen phototaktisch.

2. Dezember 1910:

1. und 2. außen reichlich Euglenen. Differenz nicht zu bemerken, vielleicht Bakterienhaut auf 2. stärker. Innen steigt bei 1. eine gelbe schaumige Masse in die Höhe (Gährung), bei 2. nicht.

3., 4. Euglenen spärlich, 5. Wenig besser.

6. Mehr Euglenen, grüner Ring über dem Meniskus. Schlauch auf der Lichtseite grün.

7. Schön grün, aber nicht so gut wie Erbsenkultur. Verteilung wie früher.

8. Etwa wie 1. und 2.

9. Etwa wie 7.

10. Flüssigkeit ganz braun, Euglenen nicht sehr reichlich.

11. Wie 1. und 2

Die Versuche zeigen wiederum, daß eiweißreiche faulende Stoffe besonders viele für die Euglenen geeignete Substanzen abgeben. Sie wurden mit gleichem Erfolge mehrmals wiederholt, wobei an Stelle der Diffusionshülsen Glasröhren kamen, die unten durch ein Stück Pergamentpapier verschlossen waren.

VII. 21. Dezember 1910:

Einigen Aufschluß über die Bedingungen, unter denen unsere Organismen in der Natur gedeihen mögen, gibt auch der folgende Versuch, in dem Kartoffeln das Ausgangsmaterial für die Ernährung der in Rohkultur vorliegenden Euglenen abgaben.

Kartoffelstücken ohne Schale wurden in Wasser zu einer dünnen Suppe verkocht.

1. Kartoffelabkochung mit Satz.

2. Die durchgeschüttelte Aufschwemmung auf die Hälfte verdünnt.

3. Ebenso auf ein Viertel verdünnt.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

4. Kartoffelabkochung vom Bodensatz möglichst klar abgegossen.
5. Dieselbe durch entfettete Watte filtriert, worauf nur ganz leise Trübung von colloïdalen Stoffen zurückbleibt.

Ergebnis am 12. Januar 1911:

1. Dicke Bakterienhaut, wenig Euglenen.
2. = = massenhaft Euglenen in ihr.
3. Ganz dünne Bakterienhaut, viel gut bewegliche Euglenen.
4. Dicke Bakterienhaut, viel mehr Euglenen als bei 1.
5. = = wenig Euglenen.

Der Versuch zeigt, daß zu viel organische Stoffe, offenbar durch überreichliche Bakterienentwickelung und die dadurch entstehenden Stoffwechselprodukte, schädlich sind. Bei der Verdünnung auf $^1/_2$ ist das Verhältnis günstiger, während bei $^1/_4$ die Zahl der Euglenen schon wieder zurückgeht. Die Beweglichkeit ist hier, wie auch sonst, in Flüssigkeiten mit nicht allzuviel organischen Stoffen lebhafter. Auch durch Entfernung des Bodensatzes wird wie bei der Verdünnung eine günstigere Konzentration herbeigeführt. Bei 5 aber, wo die Stärke zum größten Teil entfernt ist, fehlt eine Grundsubstanz, die für die Ernährung wichtig ist. In diesem Versuch, wie auch in Rohkulturversuchen mit Zucker ist die günstige Wirkung von Kohlehydraten ersichtlich, die dagegen in Reinkulturen nie zu beobachten war.

Die Bedeutung der Bakterien für das Aufschließen natürlicher Nahrungsquellen zeigt sich schließlich noch in dem folgenden Versuch, in dem Reinkulturen der Euglene absichtlich durch Bakterien verunreinigt wurden. Um eine gar zu üppige Entwickelung derselben zu verhüten, wurden aber die Pflanzenteile in Wasser kurz aufgekocht, so daß nur die Spaltpilze mit widerstandsfähigen Sporen erhalten blieben. Für alle verwendeten Stoffe wurden Vergleichskulturen mit wirklich sterilen Abkochungen (Autoklav) hergestellt.

VIII. 14. November 1910:

Zur Verwendung kamen Erlenmeyerkolben von 200 ccm mit 100 ccm Leitungswasser, da hinein wenig Gerstenkörner, Mais, Erbsen, Resedablätter, Lupinensamen, zwei trockene Pflaumen. Es wird so lange gekocht, bis der Dampf reichlich durch den Wattestöpsel strömt. Geimpft durch Reinkulturen.

Ergebnis am 5. Dezember 1910:

Gerste gährt etwas, Euglenen haben sich nicht entwickelt. Mais: Euglenen teilweise ausgeschlüpft, schön phototaktisch, ein Teil auch chemotaktisch an den Maiskörnern. Erbsen: Flüssigkeit leicht getrübt von Bakterien, Euglenen schön ausgekrochen und phototaktisch. Reseda:

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Euglenenhaut und viel Schwärmer, lebhaft grün. Lupinen: Bakterienhaut und Trübung, Euglenen wie bei Erbsen. Pflaumen: Flüssigkeit braun, keine Euglenen.

Überall, außer bei Pflaumen, zeigen die Reinkulturen schwache Vermehrung, bei Gerste sind sie also besser, sons tüberall schlechter als die bakterienhaltigen Kulturen. Pflaumenabkochung läßt, wie zu erwarten, wegen der sauren Reaktion keine Bakterien aufkommen. Pilzkeime werden bekanntlich schon durch so kurzes Kochen vernichtet. Auch für die Euglenen ist die Flüssigkeit zu sauer. Das stimmt mit den später zu schildernden Versuchen mit Zitronensäure und saurem Phosphat ebenso überein wie mit den Erfahrungen an Reinkulturen. Der von mir kultivierte Stamm von *Euglena gracilis* verträgt sehr viel weniger Säure als der Zumsteinsche (a. a. O. S. 159).

Noch weitere Versuche anzuführen, dürfte sich wohl erübrigen. Es geht schon aus den geschilderten hervor, daß die *Euglena gracilis* in stark faulenden Flüssigkeiten zu gedeihen vermag, ja daß gerade Mischkulturen mit Bakterien ihr eine üppige Vermehrung erlauben, so daß dieses Zusammenleben für sie das natürliche zu sein scheint. Dasselbe ergibt sich aus den nun zu schildernden Versuchen mit bestimmten charakterisierbaren Flüssigkeiten, die gleichfalls noch an Rohkulturen angestellt wurden.

C. Rohkulturen in Lösungen von besser bekannter Zusammensetzung.

Die nun zu beschreibenden Experimente schließen sich insofern an die vorausgehenden an, als infolge des Verhandenseins von Bakterien und Pilzen auch hier die eigentlich ernährenden Stoffe nicht genannt werden können. Die Versuche dienten in der Hauptsache der Ermittelung einer möglichst spezifischen Nährlösung, die also erlauben sollte, die fremden Organismen zurückzudrängen, um der Reinkultur vorzuarbeiten. Doch werden sich wiederum allerlei Beobachtungen anführen lassen, die teils zu gewissen physiologischen und ökologischen Deutungen berechtigen, teils als Material für spätere Untersuchungen Nutzen haben dürften.

Hier wären zunächst die Versuche mit Zumsteins Nährlösungen von Erbsenwasser und Pepton unter Zusatz von Zitronensäure einzureihen, über deren allgemeines Ergebnis oben schon berichtet wurde.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Aus ihnen geht hervor, daß die von jenem Autor empfohlenen Gemische sich für die Anhäufung jedenfalls nicht eignen. Über ihre Verwertbarkeit in Reinkulturen wird weiter unten berichtet. Die Zitronensäure erwies sich bei mir zur Fernhaltung störender Organismen als ungeeignet, weil sie das Wachtum der Euglenen hemmte und die Pilzvegetation förderte.

I. 12. Juni 1909:

Es wurde versucht, ob durch Gerbsäure, besser als durch Zitronensäure, die Bakterien und Pilze ausgeschaltet werden könnten.

Nr.	1	2	3	4	5	0,1% Pepton
Nr.	6	7	8	9	10	0,1% Asparagin
Acidum tannicum Merck	0	0,02	0,04	0,08	0,16%	dazu überall 0,1% $MgSO_4$ und 0,1% KH_2PO_4

50 ccm Flüssigkeit in Erlenmeyerkolben von 100 ccm, geimpft aus Rohkultur von Impatienssamen.

Ergebnis am 17. Juni 1909:

Da wo Gerbsäure zugesetzt war, sind Pilze gewachsen, ohne sie Bakterien, daneben später Euglenen, die durch den Gerbsäurezusatz anfangs gehemmt worden waren.

II. 17. Juni 1909:

Da organische Säuren der verschiedensten Art die Pilze ernährten, wurde nunmehr anorganische Säure in Form von saurem Phosphat verwendet.

Nr.	1	2	3	4	5	0,05% Pepton
Nr.	6	7	8	9	10	0,05% Asparagin
KH_2PO_4	0	0,1	0,2	0,4	0,8%	Salze wie oben

100 ccm Flüssigkeit in Erlenmeyerkolben von 200 ccm, geimpft wie oben.

Ergebnis am 25. Juni 1909:

Euglenen gedeihen überall ganz gut, besonders in Asparaginlösung. Aber auch Pilze, resp. in Nr. 1, 2, 6 und 7 auch Bakterien. In Asparagin viel weniger Spaltpilze als in Pepton.

III. 2. Juni 1909:

Da Asparagin sich als geeignet zur Ernährung von Euglenen erwiesen hatte, ohne die Bakterien und Pilze allzusehr zu fördern, wurde nun erprobt, wie stark die Vermehrung des Wachstums durch diesen Stoff gegenüber anorganischen Nährsalzlösungen ist.

1. Leitungswasser + 0,05% NH_4NO_3 + 0,05% KH_2PO_4 (Mg u. S im Leitungswasser).

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

2. Dasselbe + 0,05% Asparagin.
3. 0,4% $Ca(NO_3)_2$ + 0,1% $MgSO_4$ + 0,1% KH_2PO_4 in destill. Wasser.
4. Dasselbe mit $NaNO_3$ anstatt $Ca(NO_3)_2$.
5. " " $(NH_4)_2SO_4$ " "
6. " " $(NH_4)_2HPO_4$ " "
7. " " Asparagin " "
8. " " " " " + 0,1% $CaCl_2$.

Ergebnis am 27. Juli 1909:

In 3. bis 8. reichlich Euglenen.

7. und 8. stark unrein, 3. bis 6. etwa gleich gut und besser als 1. 2. nicht gut.

Der Versuch zeigt wiederum, daß 0,05 und 0,1% KH_2PO_4 die Lösung nicht sauer genug machen, als daß die Bakterien ausgeschaltet würden (vgl. Versuch II, S. 11). In Gefäß 2 mit 0,05% KH_2PO_4 und Asparagin sind offenbar die Euglenen durch die auftretenden farblosen Organismen geschädigt. Aber auch bei 0,1% KH_2PO_4 ist die Störung noch so groß, daß die anorganischen Stickstoffquellen, Nitrate sowohl wie Ammonsalze ein ebenso gutes Wachstum wie Asparagin gestatten.

IV. 28. Juni 1910:

Deutlicher geht die Überlegenheit organischer Stoffe aus folgendem Versuche hervor, der aus einer noch nicht ganz zuverlässigen „Reinkultur" beimpft wurde.

Je 100 ccm Nährlösung.

1. 0,5% $(NH_4)_2SO_4$ + 0,1% $MgSO_4$ + 0,1% KH_2PO_4.
2. " KNO_3 "
3. " $Ca(NO_3)_2$ "
4. Fleischextrakt 1% (nicht neutralisiert).
5. Erbsenwasser (5 g gelbe Erbsen auf 100 ccm Wasser).
6. Pepton 1% + 0,1% $MgSO_4$ + 0,1% KH_2PO_4.
7. Leucin 1% (natürl., wohl ziemlich unrein) " "
8. Asparagin 1% " "
9. " 0,1% " "
10. Oxamid (gesätt. Lösung) auf $^1/_{10}$ verdünnt " "
11. Harnsäure gesättigt " "
12. Asparagin 0,1% + Glukose 0,5% " "
13. " " + apfels. Na 0,1% " "
14. " " + Dextrin 0,5% " "
15. " " + weins. Na 0,1% " "
16. " " + zitronens. Na 0,1% " "

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

17. Asparagin 0,1% + Maltose 0,5% + 0,1% $MgSO_4$ + 0,1% KH_2PO_4.
18. Pepton 1% + Glukose 0,5% = =
19. Tropon 1% (ungelöst) = =
20. $(NH_4)_2SO_4$ 0,1% + Glukose 0,5% = =

Ergebnis am 14. Juli 1910:

1. bis 3. zeigen fast keine Euglenen. 4. Leider infiziert, viel Bakterien, grüner Rand. 5. Viel bei Betrachtung mit bloßem Auge farblos aussehende Schwärmer. 6. Ähnlich, aber weniger Euglenen. 7. Grüne Schwärmer, verteilt, ziemlich reichlich. 8. Keine Euglenen. 9. Fast wie 7. 10. und 11. Weniger, aber auch welche. 12. Ganz wenig Euglenen. 13. und 14. Grüner Rand. 15. bis 17. Keine Euglenen. 18. Wie 5., viel farblos aussehende Schwärmer. 19. Ziemlich viel Euglenen, hauptsächlich am Boden. 20. Durch und durch grün, aber unrein.

Es ist also hierbei noch nicht ganz gelungen die Bakterien fern zu halten, trotzdem zeigt sich eine starke Förderung durch organische Stoffe. Besonders auffallend ist die gute Wirkung einer unreinen Kultur in Glukose-Lösung, worauf noch zurückzukommen sein wird.

28. Juli 1910:

Später zeigt sich, daß Erbsenwasser (in Übereinstimmung mit Zumstein) besonders günstig ist. Die Euglenen ergrünen, sodaß die Kultur etwa so aussieht wie 20. Auch 17. (Maltose) zeigt nun üppiges Wachstum, ist aber gleichfalls nicht rein.

6. Dezember 1910:

1. bis 3. schöngrüner Fleck auf der Zimmerseite, wie stets bei Kulturen in anorganischen Flüssigkeiten. Von den übrigen Kulturen ist 9. am besten, sehr schön grün.

Die gute Wirkung von Leucin wurde auch in unreinen Rohkulturen beobachtet.

V. 25. Mai 1910:

Lehrreich ist noch folgender Versuch mit unreinen Kulturen:

1. Mannit 0,1%.
2. Glukose 0,1%.
3. Ammonium bitartaricum 0,1%.
4. Mannit 0,1% + Asparagin 0,1%.
5. Glukose 0,1% + = 0,1%.
6. Amm. bitart. 0,1% + = 0,1%.
7. Maisabkochung
8. Maisfaulflüssigkeit (mit Bakterien infizierte alte Maisabkochung).
9. Ammonium bimalicum (gleichfalls ausgefaulte Lösung).
10. Sachs'sche Lösung allein.

} Überall Sachs'sche Lösung, und zwar die konzentrierte Stammlösung auf 1/10 verdünnt.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Ergebnis am 25. Juni 1910:

1. bis 4. Keine Euglenen. 5. Gelbgrüner Bodensatz, Flüssigkeit trüb von Bakterien. 6. Am besten, sieht klar aus, mit vielen schwimmenden Euglenen, die gelbgrün erscheinen. 7. Fast so gut wie 6., Euglenen aber ganz gelb. 8. Wie 6. und 7., aber Euglenen sehen bei Betrachtung mit bloßem Auge ganz farblos aus. 9. und 10. zeigen keine Euglenen.

30. Juni:

6. und 7. gut, 7. farblos, alle anderen enthalten nur noch wenig Euglenen.

Der Versuch zeigt, daß Mannit ganz ungeeignet ist, Glukose mit Nitratstickstoff an Stelle von Ammon nicht ernährt (in Rohkulturen, die Erfahrung wurde wiederholt gemacht) und daß Asparagin neben Glukose wieder durch zu reichliche Bakterienentwickelung schädigt. Auch das Ammonsalz einer organischen Säure, der Apfelsäure, erweist sich als unbrauchbar. Wird dagegen Asparagin als Stickstoffquelle hinzugefügt, so erfolgt üppiges Wachstum. Auch die Unbrauchbarkeit organischer Säuren zeigte sich später noch wiederholt. In Maisabkochung ist das Wachstum ebenso gut wie in dem ebenso zubereiteten Erbsenwasser. Hierin werden die Euglenen anfangs entfärbt, ebenso in der gleichen Flüssigkeit nach dem Zurückgehen der Bakterien. Sachs'sche Lösung allein ist nicht geeignet.

D. Reinkulturversuche.

Nachdem alle Versuche, durch Isolierung einzelner Individuen zu pilz- und bakterienfreien Kulturen zu gelangen, fehl geschlagen waren, blieben wohl nur noch zwei Methoden übrig, nämlich der Ausstrich auf festem Substrat und das Koch'sche Plattenverfahren.

Letzteres besonders schien aussichtsvoll, nachdem ein Vorversuch gezeigt hatte, daß die Euglenen die Temperatur des erstarrenden Agars, nämlich 40° C., vorübergehend gut ertragen.

Als Substrat wurde eine Agarmischung mit Asparagin verwendet, da letzteres sich als gut fördernd erwiesen hatte, ohne die schädlichen farblosen Organismen, besonders Fadenpilze, zu sehr aufkommen zu lassen. Die Zusammensetzung war im ersten Versuche folgende: Agar-Agar 0,5 %, Asparagin 0,25 %, $MgSO_4$ 0,1 %, KH_2PO_4 0,1 %. Der Agar war also ziemlich dünnflüssig und außerdem schwach sauer, wodurch die Bakterien unterdrückt werden sollten.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

I. 23. Juni 1909.

a) Impfung auf die Oberfläche von erstarrten Agarschichten in Petrischalen, Ausstrich mit der Platinnadel.

b) Euglenen in Reagenzgläsern mit verflüssigtem Agar verteilt, der in den Röhrchen erstarrt; „Schüttelkultur" nach Molisch. Aërobe Organismen, besonders Pilze, können so höchstens auf der Oberfläche wachsen.

Ergebnis am 29. Juni 1909:

a. Auf der Agarplatte, die oberflächlich geimpft war, haben sich Euglene verbreitet.

b. In einer der Schüttelkulturen ist eine Kolonie gekommen. Da wo mehr geimpft war, ist die ganze Agarmasse grün. Durch Zerbrechen der Röhrchen läßt sich der Agarzylinder freilegen, sodaß nach Zerschneiden mit sterilem Messer abgeimpft werden kann. Doch zeigt es sich später, daß die Methode mit Petrischalen bequemer ist.

Auch andere Agarmischungen wurden versucht, zunächst solche, die neben Asparagin als Stickstoffquelle organische Säuren enthielten, weil aus den Untersuchungen von Zumstein hervorzugehen schien, daß diese besonders gut ernähren. Weil aber Agar mit einigermaßen saurer Reaktion, offenbar durch hydrolytische Spaltung der Gelose, nicht mehr erstarrt, wurden neutrale und saure Salze der organischen Säuren in geringen Konzentrationen verwendet. Daneben wurden schon in den ersten Versuchsreihen auch Abkochungen von Pflanzenteilen, die in den Rohkulturen gute Erfolge gezeitigt hatten, dem Agar beigegeben.

II. 14. Mai 1910:

Einprozentiger Agar mit 0,1% $MgSO_4$ und KH_2PO_4 wurde mit folgenden Stoffen versetzt:

a) Saures weinsaures Kali (Weinstein) 0,1%, $Ca(NO_3)_2$ 0,1%.

b) Saures weinsaures Kali 0,1%, Asparagin 0,1%.

c) Saures apfelsaures Ammon (Amm. bimalicum) 0,1%.

d) Dasselbe und dazu Asparagin 0,1%.

e) Maisabkochung.

f) Saures weinsaures Ammon (Amm. bitartaricum) 0 1%.

g) Dasselbe und dazu Asparagin 0,1%. Je zwei Platten in verschiedenen Verdünnungen (1 und 2), gegossen von phototaktisch angesammelten Schwärmern. Auf Platte 3 oberflächliche Impfpunkte.

Der Agar a, b, f und g erstarrt nicht.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Ergebnis am 24. Mai 1910.

c) 1. Euglenen über die ganze Platte, Bakterien. 2. Eine lockere Kolonie von Euglenen neben einer großen Bakterienkolonie. 3. Euglenen in einer Pilzkolonie.

d) 1. Massenhaft Euglenen über die ganze Fläche verteilt, keine zusammenhängenden Kolonien. 2. Keine Euglenen. 3. Zwei rein aussehende, sehr lockere Kolonien auf der von Pilzen freien Hälfte der Platte.

e) 1. Neben sehr vielen kleinen Bakterienkolonien auch massenhaft Euglenen, und zwar in vielen gut isolierten, kleinen, dichten Tiefenkolonien, wie auch über die ganze Oberfläche verbreitet. Dabei werden hier wie auch sonst zuweilen die Euglenen in der Nähe einer Bakterienkolonie im Wachstum gefördert oder sie suchen solche auf (Abb. 5). 2. Bakterienkolonien geringer an Zahl, einige wenige gut isolierte Euglenenkolonien, daneben an einigen Stellen Oberflächenverbreitung. 3. An den Impfstellen wenig Euglenen mit Bakterien gemischt.

Man sieht, daß apfelsaures Ammon, besonders mit Asparagin, gut ernährt und Hoffnungen auf Reinkultur erweckt, ebenso Maisagar. Doch fördert die organische Säure die Pilze, und die Maisabkochungen die Bakterien ziemlich stark.

Ähnliches zeigt ein Versuch, in dem zum Vergleich Asparaginagar und solcher von Pflanzenabkochungen gewählt worden war.

III. 2. April bis 6. Juni 1910.

Je zwei Platten, eine (2), die Verdünnung der anderen (1).

Asparaginagar

1. Lockere Kolonien, gut. 2. Eine lockere Kolonie.

Agar mit Impatiensabkochung

1. Zahlreiche lockere Kolonien. 2. Wenige ebensolche

Agar mit Maisabkochung

1. Bakterien und Pilze, aber auch Euglenenkolonien, letztere dicht.
2. Ganz überwuchert von einem sich auf der Oberfläche ausbreitenden Bakterium.

Die Maisabkochung enthält offenbar mehr organische Stoffe als die von Impatienssamen und eignet sich deshalb weniger gut. Der Asparaginagar wieder sehr günstig. Hier wie später macht sich die lockere Struktur der Euglenenkolonien auf Asparaginagar (und Impatiensagar) bemerkbar. Bei üppigerer Ernährung, z. B. Pepton- oder Erbsenagar, sind die Kolonien kleiner und dichter wegen der darin erfolgenden Abrundung der Zellen, während bei weniger reicher Nahrung eine ziemlich lebhafte metabolische Bewegung im Agar erhalten bleibt. Letztere Kolonien werden größer, und deshalb günstiger zum Abimpfen.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

IV. 24. Mai 1910:

Aus dem Versuch II d 3 vom 14. Mai auf Asparagin- und Maisagar in Schrägröhrchen geimpft.

Ergebnis am 6. Juni 1910:

Bakterienfrei gewachsen!

Ähnliche Erfahrungen wurden wiederholt gemacht, so zeigte z. B. ein Versuch mit Plattengüssen, die zum Vergleich im Licht und im Dunkeln gehalten wurden, das folgende Bild:

V.

Maisagar:

hell, sehr üppiges Wachstum, rein grün, alle Euglenen gestreckt, kriechend,

dunkel, leidlich vermehrt, gelblich, fast farblos, viele abgerundet, Zellen vacuolig.

Agar mit apfelsaurem Ammon:

hell, nicht sehr reichlich gewachsen, alle Euglenen gestreckt, grün, weit verbreitet,

dunkel, wenig Euglenen, gestreckt, grün.

Agar mit Maisfaulflüssigkeit:

hell, gut gewachsen, aber Euglenen fast farblos, Oberflächenkolonien zeigen lang ausgezogene Zungen.

dunkel, sehr viel Bakterien, Euglenen eingekapselt, farblos.

Impatiensagar:

hell, gutes Wachstum, trotz vieler Bakterien, schön grün, Euglenen alle gestreckt, Kolonien zeigen zungenförmig ausgebreitete Ränder.

dunkel, Euglenen wenig vermehrt, grün, gestreckt.

Die Vermehrung im Dunkeln war also in dem am besten ernährenden Maisagar noch am ansehnlichsten. Auf den Verlust der grünen Farbe soll in einem besonderen Abschnitte eingegangen werden. Die Ernährung mit Mais- und Impatiensabkochung erweist sich jedenfalls der mit organischen Säuren überlegen, da selbst die beste von diesen, die Apfelsäure, sich nicht besonders bewährt.

Es wurde nun noch einmal zum genaueren Vergleich der Pflanzenabkochungen mit dem bewährten Asparaginagar geschritten und gleichzeitig versucht, ob dieser vielleicht durch apfelsaures Ammon noch verbessert werden kann.

VI. 1. bis 14. Juni 1910:

Plattenguß, hergestellt mit:

Impatiensagar:

mäßiges Wachstum, Tiefenkolonien dicht, klein.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Maisagar:

Tiefenkolonien klein, sehr dicht, dunkelgrün (Pilze und Bakterien wachsen ziemlich gut).

Maisfaulagar:

Oberflächenimpfung. Sehr lockere Kolonien, Farbstoff geht zurück, Euglenen vielfach abgerundet mit Vacuolen.

Asparaginagar:

Gegossene Platte, zeigt schöne lockere Kolonien. Eine zweite mit Oberflächenimpfung trägt außerordentlich dicht gedrängte Kolonien von festem Umriß. Schön grün. Wenig Verunreinigungen auf den Platten.

Asparaginagar mit apfelsaurem Ammon:

Pilze wachsen stark. Euglenenkolonien sehr locker, verstreut in der Tiefe. Wachstum schlechter als ohne apfelsaures Ammon.

Daraus geht wieder die Überlegenheit des Asparaginagars für Plattenguß hervor; sowohl gegenüber den an sich auch ganz guten Pflanzensamenaufgüssen, wie auch besonders im Vergleich mit den organischen Säuren. Apfelsäure wurde noch einmal in Gestalt verschiedener Salze geprüft und die anderen guten Agargemische zum Vergleich herangezogen.

VII. 16. bis 27. Juni 1910:

Saures apfelsaures Ammon [nebst $MgSO_4$ und K_2HPO_4].

Sehr dichte kleine traubige Kolonien.

Neutrales apfelsaures Natron:

genau ebenso.

Ein Gemisch beider:

ebenso.

Apfelsaures Ammon + Asparagin:

leidlich, größere Kolonien als ohne Asparagin.

Asparagin ohne Apfelsäure:

noch größere Kolonien, Euglenen mehr verteilt.

Impatiensagar:

wie voriges.

Maisagar:

sehr lockere Kolonien, Eugl. wandern ziemlich weit im Agar.

Maisfaulagar:

Wachstum etwa so gut wie bei den Malaten. Auch hier die untergetauchten Kolonien grün.

Der Versuch zeigt, daß die Salze der Apfelsäure als Zugabe zum Agar leidlich brauchbar sind, doch wird man sie wegen der Pilzgefahr nicht gern heranziehen. Maisabkochung wiederum ist gut, ernährt aber die Bakterien zu üppig. Bleibt als besonders geeignet

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Impatiens- und Asparaginagar, von welchen der letztere der einfachen Beschaffung und Zusammensetzung wegen vorzuziehen ist. Danach wäre die Frage nach einer günstigen Agarmischung zur Reinkultur von *Euglena gracilis* zugunsten des 0,1prozentigen Asparaginagars entschieden. Welche Ernährung für die Weiterkultur geeignet ist und wie überhaupt die Bedürfnisse unseres Organismus liegen, soll im Folgenden gezeigt werden, wobei an die vorliegenden Versuche von Zumstein und an die geschilderten eigenen Erfahrungen anzuknüpfen sein wird.

E. Reinkulturen auf festem Substrat.

An die im letzten Abschnitt geschilderten Versuche mit Plattenguß schließen sich am besten die Impfungen auf Agarmischungen verschiedener Zusammensetzung an.

I. 21. bis 28. Juni 1910:

Die Impfungen wurden zunächst auf die Oberfläche von Agar gemacht, der in Petrischalen erstarrt war. So war eine mikroskopische Kontrolle möglich, die in Reagenzgläsern nicht auszuführen ist. Hell- und Dunkelkulturen.

Maisagar:

dunkel, die Euglenen anscheinend völlig farblos, sie kriechen am Rande des Impffleckes lebhaft umher,

hell, ähnlich, aber grüner, wenn auch nicht sehr lebhaft gefärbt.

Maisfaulagar:

dunkel, schlechte Ausbreitung, aber dichtes Wachstum am Rande, gelbgrün,

hell, ähnlich, aber viel grüner.

0,1 % Asparagin:

dunkel, mäßiges Wachstum, sehr beweglich am Rande des Impftropfens,

hell, ausgezeichnetes, dichtes Wachstum mit vielen Teilungsstadien, dunkelgrün.

0,1 % apfelsaures Ammon:

dunkel, schlechte Ausbreitung, daher Vermehrung schwer festzustellen, hellgrün,

hell, traubiges, dichtes Wachstum, dunkelgrün (durch Pilz verunreinigt).

0,1 % apfelsaures Natron:

dunkel, leidliche Vermehrung, hellgrün,

hell, viel grüner, besseres Wachstum in traubiger Kolonie.

0,1 % apfelsaures Ammon + 0,1 % Asparagin:

dunkel, Wachstum und Ausbreitung gut, hellgrün, viele Eugl. beweglich (durch Pilz verunreinigt),

hell, ähnlich, aber lebhaft grün.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

0,1 % apfelsaures Ammon + 0,1 % Leucin:
dunkel, kein gutes Wachstum, grün,
hell, ebenso.
0,1 % $(NH_4)_2HPO_4$ (ohne andere Salze):
dunkel, Wachstum etwa wie bei Maisfaulagar. Dichte Vermehrung am Rande des Impffleckes, Euglenen auffallend goldgelb,
hell, dunkelgrün, sonst ebenso. Auch später gute Ausbreitung und Vermehrung.

Der Versuch hatte vor allem das überraschende Ergebnis, daß ein Agar ohne weitere organische Stoffe, der nur Ammoniumphosphat als N- und P-Quelle enthielt, zur Ernährung recht geeignet ist und sich zur Fortzüchtung wegen der guten Ausbreitung der Euglenen auf der Oberfläche sogar besser eignet als irgend eine Mischung mit besonderer C-Quelle. Wegen des langsamen Wachstums der Euglenen in bloßen Salzlösungen waren derartige Rezepte vorher garnicht erprobt worden. Die Erfahrung wurde auch bei anderen Algen wiederholt gemacht, daß irgend welche Stoffe des Agars fördernd wirken und auch solchen Organismen Vermehrung erlauben, die in anorganischer Lösung schwer oder garnicht zu kultivieren sind. Bei Euglenen gilt das sogar für die Kultur im Dunkeln, sodaß die Verwendung organischer Stoffe aus dem Agar klar ersichtlich ist.

Von den sonstigen Dunkelkulturen auf Agar sind besonders die mit Apfelsäure und Asparagin gut gediehen, während Leucin sich als wenig geeignet erwies.

II. 18. Juli 1910:

Um diese Ergebnisse sicherer zu stellen, wurde der folgende Versuch angesetzt, in dem auch einige weitere Gemische zur Anwendung kamen. Es wurden Reagenzgläser mit schrägem Agar auf der Oberfläche mit Reinkulturen beimpft.

1. Maisagar.
2. Maisfaulagar.
3. 0,1 % Asparagin.
4. 0,1 % apfelsaures Ammon.
5. 0,1 % apfelsaures Ammon + 0,1 % Leucin.
6. 0,1 % " " + 0,1 % Pepton.
7. 0,5 % apfelsaures Natron.
8. 0,1 % Leucin.
9. 0,1 % Calciumnitrat.
10. 0,1 % Ammonphosphat.
11. Erbsenfaulagar.
12. " + Mannit.
13. " + Glukose.
14. " + Maltose.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

	Ergebnis am	
	26. Juli	30. Juli
1.	ganz gut	ganz gut
2.	nichts	mäßig
3.	mäßig	ganz gut
4.	ganz gut	ganz gut
5.	nichts	nichts
6.	=	sehr wenig
7.	ganz gut	ganz gut
8.	mäßig	mäßig
9.	=	=
10.	=	gut ausgebreitet und vermehrt
11.	gut ausgebreitet	sehr gut, aber hell gefärbt
12.	Bakterien	Bakterien
13.	gut, aber Bakterien	—
14.	gut	gut

9. August 1910:

Am besten 11, dann 10, hierauf an Güte abnehmend 14 = 6 = 3 dann 4 = 7, dann 9 = 1 = 8, in 5 nichts gewachsen.

18. August 1910.

1. Ganz gut, am Rande herum ausgebreitet. 2. Fortgetan. 3. Locker, und Pünktchen über eine größere Fläche ausgebreitet. 4. Nicht weiter gewachsen. 5. Ganz kleiner, dunkelgrüner Klex. 6. Sehr gut ausgebreitet, aber spärliches Wachstum. 7. Nicht weiter gewachsen, olivgrün. 8. Sehr spärlich, gut ausgebreitet. 9. Locker, gelbgrün. 10. Dicker dunkelgrüner, gefalteter Belag. 11. Über und über grün, auch zwischen Glas und Agar. 12. und 13. Fortgetan. 14. Kleine Menge grüner Klexchen.

Der Versuch zeigt, entsprechend dem natürlichen Vorkommen der Euglenen in faulenden Flüssigkeiten, ein gutes Wachstum in dem nicht ganz ausgefaulten Erbsendekokt, während die, keine zersetzlichen Stoffe mehr enthaltende Maisfaulflüssigkeit schlecht ist. Die Möglichkeit der Autotrophie unterstützt das Wachstum auf dem Ammonphosphat als N-Quelle enthaltenden Agar, dessen organische Stoffe aber mit ernährt haben mögen. Leucin erweist sich wieder als ungünstig.

Noch ein Versuch sei mitgeteilt, bei dem wieder die Impfung auf die Oberfläche erstarrter Nährböden geschah.

III. 9. August 1910:

1. Gelatine 10 % in Wasser ohne Salze.
2. Agar mit ausgefaulter Erbsenabkochung.
3. Agar mit nicht ganz ausgefaulter Maisabkochung.
4. Agar mit 0,1 % $MgSO_4$ und 0,1 % KH_2PO_4.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

5. Agar mit Maisabkochung und Glukose.
6. Agar mit 0,1 % apfelsaurem Natron.
7. Agar mit 0,1 % $Ca(NO_3)_2$.
8. Gewässerter Agar mit 0,1 % $(NH_4)_2HPO_4$.
9. Agar mit 0,2 % Fleischextrakt.
10. Agar mit 0,1 % $(NH_4)_2HPO_4$ und 0,5 % Glukose.
11. Agar mit 0,1 % apfelsaurem Ammon und 0,1 % Leucin.
12. Gelatine 10 % mit 0,5 % Pepton.

Ergebnis am 18. August 1910.

1. Nichts gewachsen. 2. Wenig Euglenen. 3. Euglenen in kleinen Häufchen, ziemlich hell, gelblich. 4. Kleine grüne Kolonie. 5. Schönes Wachstum, kräftig grün. 6. Leidliches Wachstum. 7. Nichts. 8. Kleine grüne Punkte. 9. Gute Ausbreitung, üppiges Wachstum. 10. Nichts. 11. Kleine tiefgrüne Kolonie. 12. Dichter dunkelgrüner Fleck ohne Ausbreitung.

26. August 1910.

Ähnlich, 6 hat sich verbessert, 9 am besten.

Am 12. September hat sich besonders 3 sehr gut entwickelt. Am 25. Oktober ist dieses Röhrchen über und über grün, üppiger sogar als 9. Bei 1 ist noch Wachstum eingetreten, wenn auch nicht stark, bei 11 dicker grüner Klumpen.

Aus den Versuchen dieses Abschnittes wären folgende Schlüsse zu ziehen:

Agar mit Ammonsalz eignet sich gut zur Weiterzüchtung der Euglenen, da diese sich über die Oberfläche ausbreiten und dadurch sich weniger gegenseitig stören, als bei dichtgedrängtem Wachstum. Sehr gut sind für denselben Zweck auch Asparaginagar und die Abkochungen von Erbsen und Mais. Die Salze der Apfelsäure (und die der Wein- und Zitronensäure) verhindern die Ausbreitung und erlauben kein sehr gutes Wachstum. Daran ändert auch ein Zusatz von Pepton oder Leucin nichts. Eine Förderung durch Zucker konnte bei bakterienfreier Kultur nicht beobachtet werden, wohl aber dann, wenn Bakterien auftraten, eine Erfahrung, die später noch wiederholt gemacht wurde. Fleischextrakt erweist sich als sehr förderlich, Pepton weniger. Gelatine ist unbrauchbar. Sie ernährt erst, wenn sie durch Bakterien verflüssigt ist.

F. Kulturen in Nährsalzlösungen.

In den Kulturen auf gallertig erstarrten „festweichen" Nährböden läßt sich die Vermehrung besser verfolgen als in Flüssigkeiten. Auch treten dabei manche Unterschiede in der Art der Ausbreitung und

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Koloniebildung hervor, wie das oben geschildert wurde. Doch sind die Versuche in ernährungsphysiologischer Hinsicht nicht so ausschlaggebend, weil selbst der gewässerte Agar wohl noch ausnutzbare Bestandteile enthält, eine Unsicherheit, die bei Flüssigkeitskulturen fortfällt.

Die nun zu beschreibenden Experimente sollten folgende Fragen aufklären:

1. Läßt sich mit rein autotropher Ernährung, also in anorganischen Salzlösungen, eine gute Vermehrung erzielen, eine bessere vielleicht, als sie Zumstein gelungen ist? (a. a. O. S. 179 und S. 188, 189).
2. Welche Säuregrade werden ertragen?
3. Wie steht es mit der Ausnutzung organischer Stoffe?

1. Autotrophe Ernährung.

Zumstein (a. a. O. S. 189) hat gefunden, daß eine rein anorganische Ernährung der Euglenen zwar möglich ist, stets aber nur mäßige Vermehrung erlaubt. Er benutzte nur Nitrat als Stickstoffquelle. Dies ist, abgesehen von eventuellen Zusätzen an Eisen- und Kalksalzen, neben der Reaktion der Lösung der Hauptpunkt, in dem sich Nährsalzlösungen unterscheiden können. Da er Ammonsalze nicht herangezogen hat, so läßt er die Frage offen, ob mit diesen nicht vielleicht ein besseres Wachstum erzielt werden kann als mit Nitraten. Für diese Vermutung spricht besonders auch die oft betonte Häufigkeit der Euglenenarten in ammoniakhaltigen Mistgrubenjauchen. Lemmermann[1]) z. B. spricht geradezu von einem „Euglena-Verein“ in ammoniakhaltigem Wasser. Aus solchen Beobachtungen könnte man auch auf eine Förderung durch alkalische Reaktion schließen.

Um diese Frage ihrer Lösung näher zu bringen, wurde ein Reihe von Versuchen angestellt, von denen der folgende als typisch mitgeteilt sei. Die benutzten Nährlösungen waren:

I. 11. Juli 1911:

1. $(NH_4)_2HPO_4$, $MgSO_4$, $KHCO_3$
2. $(NH_4)_2CO_3$, $MgSO_4$, K_2HPO_4
3. NH_4HCO_3, $MgSO_4$, K_2HPO_4
4. $(NH_4)_2HPO_4$, $MgSO_4$, K_2CO_3
5. $(NH_4)_2HPO_4$, $MgSO_4$, KH_2PO_4
6. KNO_3, $MgSO_4$, K_2HPO_4
7. KNO_3, $MgSO_4$, K_2HPO_4, 0,2 % $KHCO_3$
8. KNO_3, $MgSO_4$, KH_2PO_4

} je 0,1 %.

[1]) E. Lemmermann, Kryptogamenflora der Mark Brandenburg. Algen I, Leipzig 1910, S. 290.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Da es auf den Vergleich der Konzentration der Salze weniger ankam, wurde von der Verwendung von Molekularlösungen abgesehen. Es kamen überall $^1/_{10}$prozentige Lösungen zur Anwendung, außer bei Lösung 7, die 0,2 % $KHCO_3$ enthielt. Überall wurde ein ganz kleines Stückchen Gips zugefügt, um ein eventuelles Ca-Bedürfnis zu befriedigen. In Lösung 1, 3 und 4 entstand ein schwacher Niederschlag, in 2, 3, 4 und 7 schieden sich später wenig Kriställchen ab. Die Lösungen 1, 2, 3, 4, 6, 7 waren mehr oder wenig stark basisch, etwas stärker war die Alkalinität nur bei 2 und 4 durch die zugesetzten Monokarbonate. Lösung 5 war annähernd neutral, da das Ammoniumphosphat als sekundäres, das Kaliumphosphat als primäres Salz gegeben wurde. Lösung 8 war durch das sekundäre Kaliumphosphat schwach sauer. Um diese Reaktionsdifferenzen nicht zu verändern, wurde von einer Sterilisation der Lösungen abgesehen. Doch mögen die Lösungen ihre Reaktion später geändert haben, was auch ohne die Einwirkung der Organismen vor sich geht, indem die Monokarbonate bekanntlich Kohlensäure an die Luft abgeben, die Bikarbonate, welche anziehen, bis beide durch Tensionsausgleich mit der Atmosphäre sich gleich geworden sind. Der Grund des teilweisen Zusatzes von Karbonaten und Bikarbonaten war neben der Variierung der Reaktion und der Erprobung geeigneter Salze der notwendigen metallischen Elemente, die Idee, ob nicht vielleicht das leicht abspaltbare Kohlendioxyd der sauren Salze die Assimilation erleichtere. Eine Nitrifikation ist wohl trotz der mangelnden Sterilisation der Nährlösungen nicht eingetreten, da diese möglichst sauber hergestellt wurden. Auch geschah die Impfung mit der Aufschwemmung einer Reinkultur, die zu je 1 ccm in die 200 ccm betragenden Lösungen pipettiert wurde. Die Impfmenge war so groß, daß die sich phototaktisch ansammelnden Schwärmer bald zu beobachten waren. Aufstellung am Nordfenster.

Ergebnis am 13. Juli 1911:

1. Grüner Rand an der Zimmerseite. 2. Ansammlung um die am Boden liegenden Kryställchen. 3. Ähnlich wie 2. 4. Euglenen nicht zu sehen. 5. Grüner Fleck hinten und grüner Rand am Meniscus. 6. Wie 5. 7. Ebenso. 8. Schwacher grüner Rand, kein Bodenfleck.

17. Juli 1911:

1. Sehr mäßig, schwach grüner Rand und ganz wenig Satz. 2. und 3. ebenso. Bei 4. nichts. 5. Hübsch grüner Rand, grüner Klex am Boden hinten und Euglenen auch an der Wasseroberfläche. 6. Grüner Rand rings am Meniscus und grüner Fleck hinten am Boden. 7. Tief grüner Fleck hinten am Boden und schwacher Rand. 8. Viel Euglenen hinten am Rande und an der Oberfläche. Keine am Boden.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Es sind nun also deutliche Unterschiede im Wachstum zu erkennen. Lösung 4, die am stärksten alkalische, da K_2CO_3 stärker hydrolysiert ist als das $(NH_4)_2CO_3$ der Lösung 2, zeigt keine Vermehrung, die Euglenen sind tot. Die basische Reaktion ist unserem Organismus schädlich. Die sonst gleiche Lösung 1, die aber das primäre Karbonat enthält, erlaubt Vermehrung; die sich im Grunde von ihr nicht wesentlich unterscheidende Lösung 3 desgleichen. Auch 2 ist nicht zu stark basisch. Lösung 5, durch ihren Gehalt an saurem Phosphat neben sekundärem nahezu neutral, ist besser als die schwach basischen 1—3. Von den Lösungen 6—8 mit Nitratstickstoff ist 8 am besten, die schwach sauer ist. Die sich von ihr nur in diesem Punkte unterscheidende schwach basische Lösung 6 mit dem sekundären Phosphat an Stelle des primären ist nicht ganz so gut. Der Zusatz des neutralen Kaliumbikarbonates bei 7 macht demgegenüber keinen Unterschied. Es scheint also das Vorhandensein der leicht abspaltbaren Kohlensäure der sauren Karbonate keinen Vorteil zu bedingen. Ebenso sind Ammonsalze keine besseren Stickstoffquellen als Nitrate. Alle diese Unterschiede wurden später noch deutlicher.

Ergebnis am 21. Juli 1911:

1. Sehr wenig Euglenen am Boden. 2. Etwas mehr, dünner Rand und Bodensatz, hellgrün, schleimig. 3. Ähnlich wie 2. 4. Nichts, fortgetan. 5. Viel Euglenen, massenhaft Schwärmer in der Flüssigkeit, Rand am Meniscus, Euglenen steigen etwas (geotaktisch?) am Glase in die Höhe. Kaum Bodensatz. 6. Starker Satz, weniger Schwärmer, hellgrüner Ring am Meniscus. 7. Ganz ähnlich, aber Euglenen mehr gelblich. 8. Sehr viel Euglenen, viele schwärmen, gut phototaktisch.

29. Juli 1911:

1. Ganz dünner Rand am Meniscus. 2. Etwas mehr. 3. Wie 2. 4. —. 5. Haut an der Oberfläche, Satz, ein Teil der Euglenen schwärmt noch. 6. Dicker Satz. 7. Weniger und gelblich. 8. Massenhaft Schwärmer, gleichmäßig durch die Flüssigkeit verteilt, kein Satz, keine Haut.

21. September 1911:

1. Massenhaft Schwärmer. Der ganze Kolben grünlich gelb. Kein Satz. Schwacher Rand. 2. Kräftiger grünlichgelber Rand. Sonst fast nichts, nur wenig hell aussehende Schwärmer. 3. Ganz ähnlich. 4. — 5. Kräftiger Satz, wenig Schwärmer. 6. Ähnlich, Rand schwach, schleimig. 7. Kräftiger braungrüner Satz, keine Schwärmer. 8. Starker Satz und schwache Haut zu Boden gesunken, noch Schwärmer.

Aus dem Verhalten dieser Kulturreihe ergibt sich auch weiter die Überlegenheit der neutralen Lösung 5 gegenüber den alkalischen 1—3, was am besten am 21. Juli hervortrat, desgleichen ist die saure Lösung 8 besser als die schwach basischen 6 und 7. Besonders in

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

diesen Lösungen mit Nitrat wird die Förderung durch schwach saure Reaktion deutlich. Das Kaliumnitrat ist aber als physiologisch basisch zu bezeichnen, da durch Verbrauch des Nitrat-Jons die OH-Jonen sich anhäufen müssen. Würde das nicht berücksichtigt und würde man neutrale Lösungen verwenden, so könnte man leicht dazu kommen, die Ammonsalze für besser zu halten, als die Nitrate, wie mir das in einem Vorversuche geschehen ist. Bei Kultur 7 ist die gelbliche Färbung am 21. Juli und weiterhin gegenüber No. 6 offenbar darauf zurückzuführen, daß das Bikarbonat durch Abgabe von Kohlensäure die Lösung alkalisch gemacht hat. Es sind also Lösung 5, die durch Verbrauch des NH_4-Jons sauer geworden sein dürfte und die von vornherein saure Lösung 8 die besten. Man sieht daraus, daß die Reaktion der Lösung wichtiger ist als die Art der Stickstoffquelle. Auffallend ist die langsame Entwicklung der Kultur 1 zu beträchtlicher Üppigkeit. Auch hier mag wohl der Verbrauch des Ammonions einen Rückgang der Basizität bewirkt haben.

Im ganzen sieht man, daß bei geeigneter Mischung eine ganz gute Entwickelung der Euglenen auch in anorganischen Lösungen möglich ist, denn schon nach 10 Tagen waren Kultur 5 und 8 recht üppig, allerdings Anfang Juli, also bei bestem Lichte. Im Winter sind solche Kulturen kaum zu erzielen, selbst nicht am Südfenster.

Die Bedeutung des Ammoniaks und der Reaktion der Lösung wurde noch durch folgenden Versuch erprobt:

II. 10. Dezember 1910:

Erlenmeyerkolben durch Kork verschlossen, mit 0,1 % $MgSO_4$, K_2HPO_4 und $(NH_4)_2HPO_4$, dazu

1. 1 % NH_4HCO_3.
2. 0,1 % NH_4HCO_3.
3. 1 % $(NH_4)_2CO_3$.
4. 0,1 % $(NH_4)_2CO_3$. Nicht sterilisiert, Rohkulturen.

Ergebnis

am 14. Dezember 1910:	am 5. Januar 1911:
1. alles tot	—
2. einige Schwärmer	hübsch grün und gut phototaktisch.
3. alles tot	—
4. wie 2.	mehr braun als 2, aber auch ganz gut.

1 und 3 sind wegen zu hoher Alkalinität nicht brauchbar. 2 ist schwach alkalisch und deshalb noch brauchbar. 4 ist durch etwas stärkere Basizität offenbar an der Grenze der Schädlichkeit und hat sich auch weiterhin nicht so gut entwickelt wie 2.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Man kann daraus wohl schließen, daß basische Reaktion ungeeignet ist, sobald sie etwas stärker wird. Schwach sauere Reaktion ist jedenfalls förderlicher. Diese Frage ist aber nur mit organischen Nährlösungen weiter geprüft worden. Eine Ammoniakanhäufung an natürlichen Standorten dürfte jedenfalls für *Euglena gracilis* immer schädlich sein.

G. Reinkulturen in organischen Nährlösungen.

Was die Verwendbarkeit organischer Nährstoffe für *Euglena gracilis* anbelangt, so hat Zumstein (a. a. O. S. 187) eine Reihe von Versuchen mit Reinkulturen angestellt, die eine Orientierung über das Wichtigste erlauben. Vieles von seinen Angaben konnte ich bestätigen. In anderem weichen meine Ergebnisse ab. Auch sind nicht alle seine Behauptungen durch genügend sichere Beobachtungen gestützt.

Die Hauptresultate der Versuche von Zumstein mit organischen Stoffen sind folgende:

1. *Euglena gracilis* wächst in gewissen Lösungen mit organischen Stoffen sehr viel rascher und besser als ohne solche in rein anorganischen Salzgemischen.

2. Die Ernährung ist besonders günstig, wenn Pepton zugegen ist. Sie wird weiter gefördert durch Glukose und organische Säuren, besonders Zitronensäure, sodaß eine besonders gute Nährlösung neben den notwendigen Salzen etwa 1 % Pepton, 0,4 % Traubenzucker und 0,4 % Zitronensäure enthält.

3. Zitronensäure bis zu 2 % und mehr, wie überhaupt eine relative hohe H-Jonenkonzentration wird gut ertragen.

4. Bei üppiger Ernährung sowie im Dunkeln tritt eine Reduktion der Chromatophoren auf. Im ersteren Falle treten vereinzelt auch ganz farblose Individuen auf, die bei Lichtabschluß durchaus überwiegen. Doch wird die völlige Chlorophyllfreiheit nicht in einer einzigen Generation erreicht, sondern durch Aufteilung des Farbstoffes bei der Vermehrung erzielt.

Mir lag nun hauptsächlich an einer genaueren Feststellung der organischen Stoffe, die die Assimilation ersetzen können, also eine Vermehrung im Dunkeln erlauben, ferner lagen verschiedene Bedenken über die Bedeutung der Chromatophoren-Reduktion vor. Dann schienen mir gewisse frühere Beobachtungen an meinem Organismus mit der von Zumstein bei seiner Form gefundenen hohen Säureresistenz nicht recht vereinbar. Und schließlich interessierte mich die Verwendung solcher Lösungen, die den in der Natur vielleicht gebotenen ähnlicher wären, als die Zumsteinschen und das plötzliche massen-

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

hafte Auftreten mancher Euglenen erklären könnten. Hier kamen hauptsächlich bei der bakteriellen Zersetzung von Pflanzenteilen entstehende Substanzen und sogenannte Humusstoffe in Betracht. Was die Fäulnisstoffe anbelangt, so mußten jetzt natürlich in Gegensatz zu einem früheren Abschnitte Reinkulturen verwendet werden, und es mußte die unzersetzte Lösung mit der in einem gewissen Stadium der Zersetzung sterilisierten verglichen werden.

Was die Möglichkeit der Kultur in allerlei Pflanzenabkochungen u. dergl. anbetrifft, so liegen schon in meinen Rohkulturversuchen und den Impfungen auf Erbsen-, Maisagar und ähnlichem Erfahrungen vor, die durch solche mit bakterienfreien Flüssigkeitskulturen bestätigt werden. So erwiesen sich Abkochungen von Erbsen- und Maiskörnern als sehr brauchbar, solche von Mohrrüben und getrockneten Pflaumen dagegen nicht.

Einen Überblick über die Unterschiede zwischen Roh- und Reinkulturen, sowie über die Möglichkeit der Ernährung im Dunkeln gibt der folgende Versuch:

I. 15. Februar 1911:

Ernährungsversuch mit *Euglena gracilis* in Rein- und Rohkultur, am Lichte und im Dunkeln.

200 ccm-Erlenmeyerkolben mit 100 ccm Flüssigkeit. Je vier Kolben folgender Nährflüssigkeiten:

1. 0,1 % Fleischextrakt.
2. ebenso + 0,5 % Glukose.
3. 0,1 % $MgSO_4$ + 0,1 % KH_2PO_4 + 0,1 % $(NH_4)_2HPO_4$ + 0,5 % Glukose.
4. 0,1 % $MgSO_4$ + 0,1 % KH_2PO_4 + 0,1 % Pepton + 0,5 % Glukose.
5. Erbsenfaulflüssigkeit[1]).
6. ebenso + 0,5 % Glukose.
7. ebenso + 0,1 % Pepton.

Von den je vier gleichen Kolben wurden a und b mit phototaktisch angesammelten Schwärmern aus einer Rohkultur geimpft, c und d aber aus einer Reinkultur. Alle standen anfangs am Lichte, am 6. März, also nach drei Wochen, kamen b und d ins Dunkle.

Ergebnis am 17. Februar 1911:

Nach zwei Tagen die mit Rohkultur beimpften Kolben von Bakterien getrübt.

---

[1]) Hergestellt durch Faulenlassen von gekochten Erbsen in Wasser nach Impfen mit Erde bis zur Klärung und Geruchlosigkeit, Sterilisieren und Filtrieren.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

8. März:

Lichtkulturen:

1 a. Sehr grün. 1 c. Ganz kleine phototaktische Ansammlung, tiefgrün.
2 a. Bakt. und Pilze, Eugl.? 2 c. Wie 1 c.
3 a. Pilze, etwas grün. 3 c. Eugl.? —
4 a. Pilze und Bakt., Eugl.? 4 c. Ganz dünner grüner Rand hinten.
5 a. Wie 1 a. 5 c. —.
6 a. Sehr viel Bakt. und wenig Eugl. 6 c. —.
7 a. Wie 1 a. 7 c. Eugl. gut.

26. März:

Lichtkulturen:

1 a. Sehr grüner Bodensatz. 1 c. Zahlreiche Schwärmer, hellgrün.
2 a. Bakt. und Pilze, wenig Eugl. 2 c. Wie 1 c.
3 a. Sehr grün, viel Schwärmer, wenig Pilze. 3 c. —.
4 a. Nur Pilze und Bakt. 4 c. Wenig Euglenen-Schwärmer.
5 a. Schön grün, massenhaft Eugl. schwärmend. 5 c. Besser als die anderen Reinkulturen, sehr üppig.
6 a. und c. —.
7 a. Wie 5 a. 7 c. Wie 5 c.

Dunkelkulturen:

1 b. Dünner grüner Bodensatz und grüner Rand am Meniskus. 1 d. Wie 1 c, aber weniger.
2 b. Wie 2 a. 2 d. Wie 1 d.
3 b. Bakt. und Pilze, ganz wenig Eugl. am Rande. 3 d. —.
4 b. Nur Pilze. 4 d. Ganz wenig Eugl. schwärmend.
5 b. Reiner grüner Satz. 5 d. —.
6 b. Bakt., wenig Eugl. 6 d. Nur Bakt.
7 b. Wie 5 b. 7 d. —.

21. April:

Lichtkulturen:

1 a. Olivgrüner, reichlicher Bodensatz. 1 c. Ockerfarbiger Rand am Meniskus.
2 a. Bakt. und Pilze, Bodensatz helloliv. 2 c. Wie 1 c.
3 a. Pilzmyzel durch Eugl. grün. 3 c. —.
4 a. Pilze, Bakt., ganz wenig gelbgrüne Euglenen. 4 c. Satz ockerfarbiger Eugl.
5 a. Wie 1 a. 5 c. Hübscher gelbgrüner Bodensatz, am meisten von allen Reinkulturen.
6 a. Wie 1 a. 6 c. Niederschlag von Euglenen noch fahler als bei 1 c, etwa isabellfarben.
7 a. Wie 1 a. 7 c. Fast wie 5 c.

Dunkelkulturen:

1 b. Dünner grüner Bodensatz und grüner Rand, am grünsten von allen Dunkelkulturen. 1 d. Sehr viel Schwärmer, dünner gelber Rand am Meniskus.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

2b. Viel Bakt. und Pilze, keine Eugl. 2d. Wie 1d.
3b. Wie 2b. 3d. —.
4b. Massenhaft Pilze, keine Eugl. 4d. Schwärmer sehr reichlich, kein Bodensatz und kein Rand.
5b. Kräftiger braungrüner Satz. 5d. —.
6b. Viel Bakt, gelbgrüner Rand. 6d. —.
7b. Kräftig grüner Satz. 7d. —.

Aus diesem Versuche sind folgende Schlüsse zu ziehen:

1. Fleischextrakt erlaubt gutes Wachstum am Licht und im Dunkeln, in Rein- und Rohkulturen. Die Euglenen schwärmen im Dunkeln viel länger.

2. Wird Glukose hinzugesetzt, so wachsen in Rohkulturen die Faden- und Spaltpilze stärker, während Reinkulturen dadurch weder im günstigen noch im ungünstigen Sinne beeinflußt werden.

3. Glukose in Nährsalzlösung mit Ammonphosphat als Stickstoffquelle ist recht ungünstig. Reinkulturen gedeihen darin garnicht. In Rohkulturen können die Euglenen sich vermehren, wenigstens am Lichte. Auch Zumstein (a. a. O. S. 177) fand, daß mäßige Bakterienentwickelung unter Umständen günstig wirkt. Vgl. auch S. 16 und Fig. 5. Das Pilzmyzel wirkt irgendwie chemotaktisch auf sie. Offenbar produzieren die Pilze Stoffe, die zur Ernährung der Euglenen brauchbar sind und sie anlocken. Durch Bakterien zersetzte Zuckerlösungen haben in anderen Fällen sogar recht üppige Entwickelung ergeben.

4. Dieselbe Nährlösung mit Pepton an Stelle von Ammonphosphat ist besser und erlaubt Vermehrung im Dunkeln. In Rohkulturen werden aber natürlich die Pilze und Bakterien stark gefördert.

5. Erbsenfaulflüssigkeit ist wenigstens am Lichte sehr günstig und wetteifert dann mit Fleischextrakt. Für Dunkelkulturen ist sie nicht geeignet.

6. Zusatz von Glukose zum vorigen ist ohne Wirkung bis auf die Förderung der fremden Organismen.

7. Erbsenfaulflüssigkeit mit Pepton ist am Lichte ganz ähnlich, im Dunkeln ist es für Rohkulturen besser als mit Zucker, für Reinkulturen ist der Ausfall auffallender Weise schlecht.

Hervorzuheben ist aus diesen Ergebnissen vor allem die Eignung der Faulflüssigkeit für Euglenen gegenüber der Unbrauchbarkeit der Glukose, ferner die Erhaltung der Schwärmfähigkeit im Dunkeln, alles oft wiederholte Erfahrungen.

Um die von Zumstein (a. a. O. S. 191) als besonders geeignet empfohlenen Nährstoffe zu prüfen und die optimale Konzentration derselben zu ermitteln, wurde der folgende Versuch angestellt.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Er sollte hauptsächlich zeigen, ob die Unbrauchbarkeit der Glukose im vorigen Versuche Zufall war und ob die von mir kultivierte *Euglena gracilis* gleich der Zumsteinschen eine relativ hohe Säurekonzentration verträgt, da dieser Punkt mir bei den Rohkulturen recht zweifelhaft geworden war. Zu dem Zwecke nahm ich das eine gute Vermehrung garantierende Pepton in abgestufter Konzentration und setzte eine Vergleichsreihe mit Glukose an, indem ich annahm, daß die Förderung durch diese bei geringer Peptonmenge eher zum Vorschein kommen würde. Andererseits versah ich eine Versuchsreihe mit konstanter Peptonmenge und wechselndem Zitronensäuregehalt. Schließlich wurde auch der besonders günstige Fleischextrakt zum Vergleich herangezogen:

II. 29. April 1911:

A. Fleischextrakt:

a.	b.	c.	d.	e.
2,5	1,25	0,6	0,3	0,15 %.

B. Pepton:

2,5	1,25	0,6	0,3	0,15 %.

C. Pepton je 0,5 % + Zitronensäure:

2,5	1,25	0,6	0,3	0,15 %.

D. Glukose je 0,5 % + Pepton:

2,5	1,25	0,6	0,3	0,15 %.

Überall 50 ccm-Kölbchen mit 25 ccm Flüssigkeit, die noch 0,25 % $(NH_4)_2SO_4$, 0,05 % $MgSO_4$ und 0,05 % KH_2PO_4 zugesetzt erhielt. Reinkulturen, geimpft aus Ammonphosphatagarröhrchen. Nordfenster, meist heiteres Wetter.

Ergebnis am 8. Mai 1911:

A. a. und b. —. c. Grüner Fleck hinten und Schwärmer. d. Mehr Schwärmer, Fleck stärker grün. e. Kein Fleck, wenig Schwärmer.
B. a. und b. —. c. bis e. Ganz vereinzelte Schwärmer.
C. —
D. a. und b. —. c. Wenig Schwärmer. d. Etwas mehr. e. Beides weniger.

10. Mai 1911:

A. a. und b. Wenig Schw. c. und d. Schw. und grüner Fleck. e. Beides weniger.
B. a.—c. Unverändert. d. Etwas mehr Schw. e. Recht hübsch grün.
C. —.
D. a. und b. —. c. und d. Reichlich Schw. e. Weniger.

12. Mai 1911:

A. a. und b. Wie oben. c. Sehr üppig, je nach Beleuchtung, bald Flüssigkeit ganz grün, bald alle Eugl. phototaktisch angesammelt. d. Etwas weniger. e. Beträchtlich weniger Eugl.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

B. a.—c. Unverändert. d. und e. Etwas weniger als A. e., Eugl. an der Oberfläche der Flüssigkeit.
C. a.—d. —, Impfmasse noch grün. e. Ganz wenig Schwärmer.
D. a. —. b. Ganz wenig Schwärmer. c. und d. Wie B. d., ganz hübsch grün. e. Etwas weniger.

15. Mai 1911:

A. a —. b. Viel Schwärmer. c. Noch mehr. d. Etwas weniger als c. e. Etwa wie b.
B. a. und b. Ganz wenig Schw. c. Etwas mehr. d. Grüne Haut an der Oberfläche, wenig Schw. e. Ähnlich, etwas mehr.
C. a.—d. —. e. Ziemlich viel Schw.
D. a. —. b. Ganz wenig Schw. c. und d. Viel, etwa wie B. e. e. Etwas weniger.

20. Mai 1911:

A. a. —. b. und c. Etwa gleich üppig. d. Beinahe ebenso. e. Unverändert.
B. a. und b. Unverändert. c. Wenig mehr. d. Hübsch grün. e. Gleichfalls. Beide mit guter Haut. Nicht ganz so üppig wie A. e.
A. a.—d. —. e. Hübsch grün, Schw. und Beginn einer Haut.
D. Unverändert.

29. Mai 1911:

Bei A. a. grüner Rand.

10. Juni 1911:

A. a. Dickgrün und Bodensatz.
B. a. Spärlich Schwärmer. b. Etwas mehr. c. Haut.
C. a.—c. —. d. Leidlich grün. e. Hübsch grün.
D. a. —. b. Wenig Schwärmer. c.—e. Gut grün.

23. Juni 1911:

A. Es ist nicht mehr zu sagen, welche Kultur die beste ist.
B. Unverändert.
C. Gleichfalls.
D. a. —. b. Wenig Schw. c. Gute Haut. d. und e. Unverändert.

6. Juli 1911:

A. a. Hat stärkeren Bodensatz als e. Bei a. und b. Schwärmer nicht zu sehen, da die Kolben durch festgesetzte Eugl. undurchsichtig sind. c. Zeigt viel mehr Schw. als d, dieser mehr als e.
B. Unverändert. c. Viel Schw. d.—e. Keine.
C. a.—c. —. d. Viel Schw. e. Massenhaft Schw.
D. a. Ganz wenig. b. Etwas mehr Schw. c. Wenig Schw., kein Satz, schöne Haut. d. und e. Spärlicher.

27. Juli 1911:

A. Überall dicker grüner Satz, am meisten bei c.
B. a. —. b. Grüner Rand über dem Meniscus. c. Ähnlich und Haut. d. Bodensatz und dünne Haut. e. Ähnlich.
C. a.—c. —. d. Viel Euglenen, aber Pilze. e. Dünner Rand und Haut.
D. a. —. b. Grüner Rand, Euglenen etwas in die Höhe gekrochen. c. Haut. d. Haut und Satz. e. Ebenso, aber weniger.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Der Übersichtlichkeit wegen wurden die Ergebnisse in die folgende Tabelle I gebracht, wobei freilich etwas Schematismus unvermeidlich war, sodaß die gleichen Bezeichnungen, die ja auf freier Schätzung beruhen, nicht überall ganz die gleiche Entwickelungshöhe angeben mögen, sondern etwas relative Werte veranschaulichen.

Als Ergebnisse möchte ich hervorheben:

1. Fleischextrakt ist zur Ernährung der *Euglena gracilis* besonders geeignet, und zwar vor allem in einer Konzentration von etwa $^1/_4$—$^1/_2$ %. Die Euglenen schwärmen lange.

2. Pepton ist nicht ganz, aber fast ebenso gut, besonders in den niederen Konzentrationen. Die Euglenen schwärmen weniger lange, halten sich mehr in den oberen Flüssigkeitsschichten auf und gehen schließlich in Form einer Haut oder eines Randes am Meniscus in den unbeweglichen Zustand über. Diese Beobachtung wurde auch schon in den Rohkulturen gemacht. Pepton stärkt also offenbar die Geotaxis. Nach Zumstein (S. 190) soll noch 10prozentige Peptonlösung gut geeignet sein. Bei mir wirkte schon solche von 1,25 % hemmend, das Optimum der Konzentration lag unter 0,6 %. Ähnliches gilt für Fleischextrakt.

3. Zitronensäure zu Pepton zugesetzt, hemmt selbst in einer Konzentration von 0,12% die Vermehrung. Bei 0,5 % ist schon kein Wachstum mehr möglich. Die Hautbildung wird verhindert, vielleicht aber nur auf Grund der Verzögerung überhaupt.

4. Glukose zu Pepton zugesetzt hat in der Konzentration von 0,5 % kaum irgend welchen Einfluß. Jedenfalls bewirkt es keine Förderung, höchstens in geringem Grade das Gegenteil.

Vergleicht man diese Resultate mit dem, was Zumstein angibt, so findet man eine Übereinstimmung nur in der Förderung durch Pepton und Fleischextrakt, die allerdings bei mir nur für viel niedrigere Konzentrationen galt. Die große Widerstandsfähigkeit gegen Säure, die dieser Autor konstatierte, besaß dagegen mein Euglenen-Stamm nicht. Während nach Zumstein noch 2 % Zitronensäure gut vertragen werden sollen, war bei mir die Grenze schon bei etwa 0,4 bis 0,5 % erreicht. Schließlich ist auch der Mangel einer Förderung durch Traubenzucker auffallend, da dieser in der kompleten Nährlösung Zumsteins zu dem besonders üppigen Wachstum beitragen soll. Diese und andere Differenzen gegenüber Zumsteins Befunden, auf die ich noch zu sprechen komme, erweckten in mir erst Zweifel über die Richtigkeit der Bestimmung meiner Euglenenart. Aus diesem Grunde wandte ich mich an Herrn Prof. Senn-Basel, da der leider verstorbene Herr Dr. Zumstein seine Arbeit im dortigen Institut ausgeführt hat. Herr Prof. Senn hatte die Freundlichkeit, mir zu be-

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Tabelle I.

Versuch vom 29. April 1911.

	Fleischextrakt					Pepton					Pepton je 0,5 % + Zitronensäure					Glukose je 0,5 % + Pepton				
	2,5	1,25	0,6	0,3	0,15 %	2,5	1,25	0,6	0,3	0,15 %	2	1	0,5	0,25	0,12 %	2,5	1,25	0,6	0,3	0,15 %
8. V.	—	—	F+S+	F+S+	S+	—	—	S+?	S+?	S+?	–	–	–	–	—	—	—	S+	S+	S+?
10. V.	S+?	S+?	"	"	F+S+	—	—	"	S+	#	–	–	–	–	—	—	—	S#	S#	S+
12. V.	S+?	S+?	×	#	+	—	—	"	+	+	–	–	–	–	S+?	—	S+?	"	"	"
15. V.	—	S#	S×	"	#	S+?	S+?	S+	H+	H+	–	–	–	–	S+	—	"	"	"	"
20. V.	—	#	#	"	"	"	"	"	H#	H+	–	–	–	–	S+H+?	—	"	"	"	"
29. V.	R	"	"	"	"	"	"	"	"	"	–	–	–	–	"	—	"	"	"	"
10. VI.	#	"	"	"	"	"	S+	H+	"	"	–	–	–	+	#	—	"	#	#	#
23. VI.	#	#	#	"	"	"	"	"	"	"	–	–	–	+	"	—	"	"	"	"
6. VII.	×	×	×S#	×S+	×S+?	"	"	H+S#	H# S–	H# S–	–	–	–	S#	S×	S+?	S+	H#S+?	H+	H+
27. VII.	"	"	×	×	×	—	R	R+H	#H+?	#H+?	–	–	–	"	R+?H+	—	H+	H#	#H+	+H+?

F = phototaktischer Fleck am Boden.
S = schwärmende Euglenen.
R = Rand am Meniscus.
H = Haut an der Oberfläche.

— = nichts.
+? = wenig.
+ = mehr.
# = reichlich.
× = üppig.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

stätigen, daß tatsächlich *Euglena gracilis* vorliegt, wofür ich ihm auch an dieser Stelle bestens danken möchte.

Es mußte also der von mir isolierte Stamm entweder einer in physiologischer Beziehung konstant abweichenden Rasse angehören oder durch das Vorleben modifiziert sein. Letztere Anschauung hatte mir früher[1]) vorgeschwebt, als ich fand, daß meine Euglena von der Zumsteinschen in reizphysiologischer Hinsicht abwich[2]).

Um diese Frage zu entscheiden, versuchte ich eine Anpassung an höhere Säurekonzentrationen zu erzielen. Gleichzeitig sollte dabei festgestellt werden, ob durch die Zitronensäure vielleicht nur das Ausschlüpfen der Euglenen verhindert wird, denn der Versuch vom 29. April war aus einer älteren Agarkultur geimpft worden, in der die Flagellaten sich mit einer Hülle umgeben hatten. Es wurde von der Kultur C. d. aus der vorigen Versuchsreihe geimpft, die mit 0,25 % Zitronensäure die größte Säure-Menge enthielt, die noch Wachstum erlaubte, und in der die Euglenen zur Zeit noch beweglich waren.

III. 16. Juni 1911:

Überall 0,25 % Fleischextrakt, dazu Zitronensäure: 0,1, 0,2, 0,5, 1 %, je zwei Kolben. Eine Reihe a. geimpft aus B. a. vom 29. April, also aus durch 0,05% KH_2PO_4 sehr schwach saurer Lösung, die andere b. aus C. d. Ferner die Kölbchen C. a.—c. vom 29. April aus C. d. frisch geimpft.

Ergebnis am 23. Juni 1911:

Noch nichts gewachsen.

3. Juli:

a. 0,1 und b. 0,1 zeigen ganz wenig Schwärmer, vielleicht a. 0,1 etwas mehr, jedenfalls nicht umgekehrt. Die übrigen Kolben weisen keine Entwickelung auf.

8. Juli:

a. 0,1 deutlich besser als b. 0,1, die anderen nicht angegangen.

13. Juli:

Ebenso weiter.

Eine Gewöhnung läßt sich also nicht nachweisen. Sie dürfte nach dieser Erfahrung auch bei längerer Kultur in schwach sauren Lösungen ausbleiben. Auch ist es nicht allein das Ausschlüpfen, was durch die Säure gehindert wird. Beim Vergleich dieser Versuchsreihe mit der vorigen ist zu bedenken, daß 0,25 % Fleischextrakt durch

---

[1]) E. Pringsheim, Über die Herstellung von Gelbfiltern und ihre Anwendung zu Versuchen mit lichtreizbaren Organismen. Ber. d. deutsch. bot. Ges. Bd. XXVIa, 1908, S. 565.

[2]) Th. Frank, Cultur und chem. Reizerscheinungen der *Chlamydomonas tingens*. Bot. Ztg. 1904, S. 32 ff.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

die darin enthaltenen sauren Phosphate vielleicht ebenso hohe oder höhere H-Jonenkonzentration enthält als die Peptonlösung mit 0,05 % KH_2PO_4.

IV. An diese Experimente wurden nun weitere mit Fleischextrakt und Zusätzen von Zucker und Zitronensäure angeschlossen, die einige noch offen bleibende Fragen beantworten sollten. In dem Versuche III wurde folgendes angestrebt:

A. Es sollte bei zwei verschiedenen Fleischextraktkonzentrationen der Einfluß starker und schwacher Beleuchtung sowie völliger Finsternis erprobt werden, ferner sollte Zimmertemperatur mit der von 30° im Thermostaten verglichen werden. Die Versuche wurden Mitte Juni angesetzt, also in der hellsten Jahreszeit, die zudem im Jahre 1911 meist schönes Wetter brachte, und zwar an einem Süd- und einem Nordfenster.

B. Diese Reihe sollte zeigen, ob Glukose nicht vielleicht bei geringer Menge anderer organischer Nährstoffe fördernd wirkt, da 0,5 % Pepton vielleicht schon annähernd die bestmögliche Vermehrung gewährleistet. Sollte das am Lichte nicht der Fall sein, so könnte es doch im Dunkeln zutreffen, da der Zucker vielleicht die eigenen Assimilate zu ersetzen geeignet wäre. Deshalb wurde diese Versuchsreihe ganz wie die vorige (A.) angesetzt, bis darauf, daß überall 0,2 % Glukose hinzukam.

C. Die freie Zitronensäure hatte schon in geringer Konzentration hemmend gewirkt. Zumstein hat aber angegeben, daß sie ernährend wirkt. Wenn nun auch mein Stamm nicht soviel Säure verträgt, wie der Zumsteinsche, so konnte doch die Förderung an sich auch für den ersteren gelten, wenn die Zitronensäure in neutraler Lösung geboten wurde. Auch hier wurden im übrigen die Bedingungen der beiden Reihen A. und B. innegehalten, da ja die Nährkraft der Zitronensäure wie die der Glukose vielleicht eher bei geringer Menge anderer organischer Stoffe oder im Dunkeln zum Vorschein kommen konnte.

Der Versuch vom 13. Juni wurde leider durch die Fremdinfektion einiger Kölbchen gestört, deshalb wurde er am 22. Juni z. T. wiederholt, ohne daß dadurch die wesentlichen Resultate sich geändert hätten. Diese bestehen in folgendem (Tab. II):

A. Fleischextrakt ergab wieder sehr gute Ernährung, besonders bei intensiver Beleuchtung. Die Kulturen am Nordfenster blieben anfangs gegen die am Südfenster ein wenig zurück. Auch im Dunkeln ernährt Fleischextrakt sehr gut. Natürlich ist hier die Verzögerung noch größer. Die Euglenen schwärmen im Dunkeln sehr lange, und zwar monatelang, während sie am Lichte etwa nach 8—14 Tagen zur Ruhe kommen. Diese Erfahrung habe ich sehr oft gemacht. Im Thermostaten bei 30° im Dunkeln kann anfangs eine etwas schnellere

Tabelle II.

	A. Fleischextrakt								B. 0,2 % Glukose + Fleischextrakt								C. 0,1 % Zitronensäure, neutralisiert + Fleischextrakt							
	0,5 %				0,1 %				0,5 %				0,1 %				0,5 %				0,1 %			
13. VI.	Süd	Nord	Dunk.	Therm.	Süd	Nord	Dunk.	Therm.	Süd	Nord	Dunk.	Therm.	Süd	Nord	Dunk.	Therm.	Süd	Nord	Dunk	Therm.	Süd	Nord	Dunk	Therm.
19. VI.	++	S+	S+?	—	F+	F+	S+?	Pilz	++	S+	S+	Bakt	F+	S+	S+	Pilz	S+?	S+?	S+?	—	S+?	—	S+?	Bakt.
21. VI.	++	+	Bakt	S+	++	+	S+?	—	++	+	?	—	++	+	?	—	++	S+?	?		—	—	?	—
23. VI.								S+																
26. VI.	×	+	+	+	++	++	+	S++	++	++	+	—	++	+	+	—	++	+	S+?		S+?	—	S+?	—
3. VII.	×				++		—		++				++				++				+			
13. VII.	×	×	Bakt.	?	F+	F+	—	S++	×	F+	Bakt.	?	F+	F+?	Bakt.	?	++	++	S+?	?	F+	F+	S+?	?
22. VI.	Wiederholt								Wiederholt															
26. VI.	S+?	S+?	—	S+					S+?	S+?	S+?	S+												
29. VI	+	+	S+?	S+					+	+?	S+?	S+												
3. VII.	++	++	S+	S+					++	++	S+	S+												
13. VII.	++	++	S+	S+					++	++	S+	S+												

Zeichenbedeutung wie bei Tab. I.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Entwickelung beobachtet werden, als sogar am Lichte bei Zimmertemperatur. Die Vermehrung ist aber nie sehr üppig[1]).

B. Ein Zusatz von 0,2 % Glukose bewirkt keinerlei Veränderung, jedenfalls keine Verbesserung, weder am Lichte noch im Dunkeln. Dieses Ergebnis bildet eine Bestätigung der Erfahrungen aus den Versuchen vom 15. Februar und 29. April 1911.

C. Zitronensäure begünstigt die Vermehrung der Euglenen auch dann nicht, wenn sie in geringer Konzentration geboten und neutralisiert wird. Sie wirkt im Gegenteil auch dann noch hemmend. Wenn nun dabei auch vielleicht die weniger günstige Wirkung der mit Soda neutralisierten Lösung gegenüber der schwach sauren mit Fleischextrakt allein in Betracht kommen kann (vgl. S. 25), so kann doch wohl von einer Förderung des Wachstums durch Zitronensäure nicht die Rede sein.

Nach diesen Ergebnissen war es wohl überflüssig, Versuche mit reinen Zucker- und Zitronensäurelösungen anzustellen, wie sie Zumstein (a. a. O., S. 190) unternommen hat. Es ergibt sich wieder eine Differenz gegenüber den Resultaten dieses Autors, die ich mir nur dadurch erklären kann, daß ich eine andere physiologische Rasse in der Hand gehabt haben muß. Die ernährungsphysiologisch merkwürdigen und überraschenden Befunde Zumsteins an seiner *Euglena gracilis* gelten also für die meine nicht, die sich vielmehr nicht wesentlich von anderen mixotrophen Organismen, z. B. von *Chlamydomonas*arten[2]) oder *Haematococcus* (nach noch zu veröffentlichenden Resultaten) unterscheidet.

Danach kann *Euglena gracilis* bei gutem Licht und autotropher Ernährung oder bei Darbietung organischer Stickstoffverbindungen auch bei schwachem oder mangelndem Lichte gedeihen. Besonders geeignet erweisen sich Erbsenwasser, Pepton und Fleischextrakt mit ihrem Gehalt an Peptonen, weniger Aminosäuren, garnicht Kohlehydrate und organische Säuren (soweit geprüft).

H. Die Reduktion der Chromatophoren.

Nach Zumstein (a. a. O. S. 184) läßt sich der Verlust des Chlorophylls auf zweierlei Weise erzielen: „Entweder durch Verdunkelung einer vorher am Licht gehaltenen Kultur, oder am Licht durch Zugabe sehr reicher organischer Nahrung". Der erste Vorgang erinnert sehr an die Entstehung chlorophyllfreier Teile beim Etiolement höherer Pflanzen. Besonders „üppige" Ernährung ist dazu nicht er-

[1]) Ähnliche Erfahrungen macht man mit Pilzen und Bakterien, die nahe dem Maximum der Temperatur mehr isantagonistische Stoffe bilden als bei geringeren Wärmegraden.

[2]) Jacobsen, H. C. J., Kulturversuche mit einigen niederen Volvocaceen, Zeitschr. f. Bot., Bd. 2, 1910, S. 145.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

forderlich, falls überhaupt Vermehrung möglich ist. Die zweite Methode liefert immer nur wenige Individuen mit reduzierten Chromatophoren unter sehr vielen normal grünen. Bei der allmählichen Erschöpfung der Nährlösung verschwinden die farblosen Euglenen ganz. Ob durch rechtzeitiges Übertragen derselben in frische Nährlösung derselben Art auch ganz farblose Kulturen erzielt werden können, bleibt noch zu untersuchen.

Nun hat Reichenow[1]) mit *Haematococcus* und im Anschluß, daran auch mit *Euglena sanguinea* und *gracilis* einige Versuche angestellt, um die Ursachen der Haematochrombildung aufzudecken. Die an *Haematococcus* eingehend behandelte Frage führte zu der Lösung, daß ein Mangel an assimilierbarem Stickstoff und in geringerem Maße auch der von Phosphat die Reduktion des Chlorophylls unter gleichzeitiger Entstehung des roten Farbstoffes bewirkt. Bedingung dafür ist die Versorgung mit den übrigen Nährstoffen. Eine unter solchen Umständen rot gewordene Kultur kann durch Zusatz von Stickstoff und Phosphor wieder zum Ergrünen gebracht werden. *Euglena sanguinea* trat in rein roter Form ohne Chlorophyll in einer Kultur auf, die Traubenzucker in Molischs Nährlösung enthalten hatte, nachher aber durch Algenwachstum bis zu dessen Stillstand erschöpft worden war.

Für *Euglena gracilis* liegt nur ein Versuch von Reichenow vor. In einer Nährlösung von 0,05 % Traubenzucker, 0,02 % Zitronensäure, 0,002 % $MgSO_4 + 7\ H_2O$ und 0,005 % KH_2PO_4, also ohne eigens zugesetzten Stickstoff, waren nach neun Tagen die ersten Spuren roten Farbstoffes zu sehen, die nach mehreren Wochen sich beträchtlich vermehrt hatten. Die Chloroplasten waren stark reduziert (vgl. Abb. 11 Tafel I der angeführten Arbeit).

Wie Reichenow (a. a. O. S. 17) betont, läßt sich dieser Fall mit den Ergebnissen Zumsteins nicht recht in Übereinstimmung bringen, denn weder von Dunkelheit noch von besonders hoher Konzentration der Nährlösung konnte die Rede sein.

Die Ergebnisse Reichenows kann ich durchaus bestätigen. Ich fand eine Reduktion des Chlorophylls unter Hervortreten der gelben bis roten Farbstoffe bei mehreren Algen und Flagellaten, nämlich außer bei *Haematococcus pluvialis, Raphidium*arten und *Euglena gracilis* auch bei *Scenedesmus acutus*, und besonders bei einigen Cyanophyceen. Dieses „Etiolement aus Stickstoffhunger" haben schon Molisch[2]) und Benecke[3]) an verschiedenen Algen beobachtet. Das

[1]) E. Reichenow, Untersuchungen an *Haematococcus pluvialis* nebst Bemerkungen über andere Flagellaten. Arbeiten aus dem kais. Gesundheitsamt, Bd. 33, 1909, S. 1. [2]) H. Molisch, Die Ernährung der Algen. Sitzungsber. d. kais. Ak. d. Wiss. in Wien. Math.-naturw. Kl. Bd. 104, Abt. 1, 1895. [3]) W. Benecke, Über Kulturbedingungen einiger Algen. Bot. Ztg. 1898, Bd. 56.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

beste Mittel zur Erzielung dieses Farbenumschlages ist eine Erdabkochung ohne Zusatz von Nährsalzen. Der Befund an Blaualgen erinnert an die Ergebnisse von Magnus und Schindler[1]), die gleichfalls auf einen Nährsalz- und speziell Stickstoffmangel bei Oscillarien hin eine Reduktion des Chlorophyllgehaltes beobachteten. Ihre Resultate habe ich mit kleinen Abweichungen auch erhalten und komme in einer späteren Mitteilung darauf zurück.

Der Auszug aus Erde übt auf die meisten Algen, wie ja auch auf andere Organismen, eine die Vermehrung stark fördernde Wirkung aus. Der Gehalt an assimilierbarem Stickstoff darin ist aber sehr gering[2]). So erklärt sich wohl die besonders intensive Verfärbung in dieser Flüssigkeit bei verschiedenen Algen nach anfangs starkem Wachstum. Die Deutung der letztgenannten Autoren, daß das Chlorophyll reduziert werde, um eine Überhäufung mit Assimilationsprodukten zu verhindern, ist nicht von der Hand zu weisen (a. a. O. S. 319). Für sie spricht auch das Verschwinden des Chlorophylls aus allen Dauerzuständen der Algen und höheren Gewächse, die fast überall einer gelben, roten oder braunen Farbe Platz macht. Es liegt hier also offenbar eine weit verbreitete Erscheinung vor, wenn auch die Ökologie der Frage noch eingehender zu prüfen wäre.

Was nun im besonderen *Euglena gracilis* anbelangt, so liegt in der Kultur in Erdabkochung oder anderen Nährlösungen, die bei geringem Gehalt an Stickstoff die Vermehrung fördern, tatsächlich ein dritter Weg vor, fast chlorophyllfreie Zellen zu erzielen. Es wurden daher einige Versuche angestellt, um diese Frage weiter zu klären.

Wird eine im Autoclav hergestellter und sterilisierter Erdeauszug ohne weitere Zusätze, von der Farbe hellen Bieres, aus einer Reinkultur mit *Euglena gracilis* beimpft, so entwickeln sich die Flagellaten reichlich. Die Schwärmer fallen dem bloßen Auge schon durch ihre helle Farbe auf. Allmählich gebt ein Teil der Euglenen in Ruhe über, wobei ein ockerfarbener Satz entsteht, doch finden sich nach vielen Monaten noch schwimmende Individuen. In einer Kultur vom 22. Juni 1911 z. B. waren noch am 18. Dezember 1911, also nach einem halben Jahre, viel schwärmende Euglenen vorhanden. In einer anderen vom 22. Juni 1911 war am 3. Juni 1912 ein reichlicher isabellfarbener Satz und immer noch einige Schwärmer. Bei mikroskopischer Betrachtung erweist sich der Bodensatz zusammengesetzt aus abgerundeten Euglenen mit sehr viel Paramylon, kleinen gelblichen schwer

---

[1]) W. Magnus und B. Schindler, Über den Einfluß der Nährsalze auf die Färbung der Oscillarien. Ber. d. deutsch. bot. Ges. Bd. 30, 1912, S. 314.

[2]) M. W. Beijerinck nach Stockhausen, Ökologie, Anhäufungen nach Beijerinck. Berlin 1907, S. 84.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

zu erkennenden Chromatophoren und rotgelben bis roten Körnchen im Innern. Ganz ähnlich sehen die schwimmenden Individuen aus. Anfangs besitzen sie noch einen grünlichen Schimmer zwischen den Paramylonkörnern. Später ist von den Chromatophoren kaum mehr etwas zu erkennen. Die gelbliche bis bräunliche Farbe des Bodensatzes rührt von den Farbstoffkörnchen zwischen den Paramylonkörnern her.

Es wurden nun zu dem Erdeauszug verschiedene stickstoffhaltige Substanzen und Nährsalze zugesetzt, um zu sehen, ob ein jenem Extrakt fehlender Nährstoff den Mangel des Ergrünens bedingt:

I. 4. März 1912:

1. Erdeabkochung am Fenster.
2. " im Dunkeln.
3. " + 0,2 % KNO_3.
4. " + 0,2 % $(NH_4)_2HPO_4$.
5. " + 0,2% KNO_3 + 0,1 % $MgSO_4$ + 0,1 % K_2HPO_4.
6. " + 0,2% $(NH_4)_2HPO_4$ " "
7. " + 0,1 % Fleischextrakt.

Nach dem Sterilisieren ist 1—3 klar, 4—6 zeigt starken Niederschlag, 7 ganz schwachen. Die Niederschläge rühren wohl von Calciumphosphat her und werden nicht abfiltriert.

Ergebnis am 29. März 1912:

1. Viel Schwärmer. Mit bloßem Auge ist an ihnen keine Farbe zu erkennen (während solche etwa aus Fleischextraktlösung deutlich grün aussehen). Mikroskopisch zeigen sie sich hellgrün gefärbt, ohne Paramylon, zart durchsichtig, gut beweglich. An jedem Chromatophor das Pyrenoïd deutlich.

2. Nicht gewachsen.

3. Ähnlich wie 1, aber weniger Euglenen.

4. Weniger Schwärmer als bei 1, mehr als bei 3. Mit bloßem Auge keine Farbe zu sehen. Mikroskopisch ähnlich wie bei 1.

5. Ähnlich wie 1, aber Paramylon.

6. Schwärmer lebhaft grün mit wenig Paramylon.

7. Reichlich Schwärmer. Makroskopisch farblos, mikroskopisch hellgrün mit zahlreichen sehr kleinen Paramylonkörnern.

Ergebnis am 3. Juni 1912:

1. Ockergelber Satz und Schwärmer. Euglenen enthalten sehr viel Paramylon, gelbrote und rotbraune Körnchen. Chloroplasten klein, gelblich. An manchen Individuen kaum noch grüne Farbe.

2. —.

3. Olivgrüner Satz und wenig Schwärmer. Diese voll Paramylon, hellgrün mit roten Körnchen.

4. Dunkelgrüner Satz und Schwärmer. Euglenen lebhaft grün mit nicht viel Paramylon und wenig roten Körnchen.

5. Olivgrüner Satz und wenig Schwärmer. Ähnlich wie 3, aber ohne rote Körnchen.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

6. Reichlich Schwärmer, unbewegliche Euglenen wegen des starken anorganischen Niederschlages mit bloßem Auge nicht zu sehen. Euglenen mikroskopisch lebhaft grün mit wenig Paramylon, ohne rote Körnchen.

7. Gelbgrüner Satz, sehr viel Schwärmer, üppigste Kultur. Die Euglenen bergen sehr viel Paramylon, sind nicht sehr grün, enthalten rote Körnchen und sind sehr beweglich. Die Kultur enthält wohl die größte Euglenenmasse, die ich in Reinkulturen bekommen habe.

Man ersieht aus diesem Versuche, daß es tatsächlich der Mangel an Nährsalzen, besonders an geeignetem Stickstoff ist, der das Ausbleiben der Chlorophyllbildung und die Erzeugung des roten Farbstoffes bedingt. In bloßem Erdeauszug ist die Vermehrung besonders anfangs sehr reichlich, stärker sogar als bei Zusatz von Nährsalzen, sodaß das Chromatophorenwachstum und die Erzeugung des Chlorophylls mit der raschen Teilungsfolge nicht Schritt hält, ähnlich wie bei üppiger Ernährung mit Pepton oder Fleischextrakt. Während in diesen Substanzen aber bald das Ergrünen eintritt, weil die organischen Stoffe verbraucht werden, vielleicht auch unter dem Einfluß von neugebildetem Ammoniak, wird der Erdeauszug immer ärmer an assimilierbarem Stickstoff und die Euglenen werden immer heller. Von einer besonders üppigen Ernährung in Erdeauszug, die diesen Fall der Entfärbung dem einen Zumstein sehen einordnen würde, kann auch deshalb nicht die Rede sein, weil in dieser Flüssigkeit keine Entwickelung ohne Licht möglich ist.

Ein Zusatz von Kalisalpeter verlangsamt den Prozeß des Erblassens. Die Chromatophoren werden jedoch ziemlich hell. Es wird auch noch Hämatochrom gebildet. Kommen Magnesiumsulfat und Kaliumphosphat hinzu, so findet man keinen roten Farbstoff, während sonst nichts geändert wird.

Besser als Salpeter ist Ammonstickstoff geeignet, das Ergrünen hervorzurufen. Um auch noch die Entstehung des Hämatochroms zu unterdrücken, ist aber gleichfalls noch die Gegenwart der anderen Nährsalze notwendig. Jetzt ist von der entfärbenden Kraft des Erdeauszuges beim Vergleich mit reinen Nährsalzlösungen kaum mehr etwas zu erkennen. Die Aufspeicherung des Paramylons ist in allen Fällen ungefähr der Verfärbung entsprechend.

Die Kultur mit Erdeauszug und Fleischextrakt ist mit den anderen schwer zu vergleichen, weil der letztere ja auch etwas entfärbende Wirkung hat und die Stoffmischung sehr kompliziert ist.

Schließlich habe ich noch einige Versuche mit ausgefaulten Abkochungen von Erbsen und Maiskörnern sowie mit Agar, der solche enthielt, angestellt. Auch hier waren die Euglenen, obgleich am Lichte erwachsen, mehr oder weniger entfärbt.

Die Erfahrungen aus diesem Versuche, die wiederholt gemacht

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

wurden, bestätigen die Ergebnisse von Reichenow. Gegenüber den Befunden von Magnus und Schindler ergeben sie insofern eine Ergänzung, als bei *Euglena gracilis* die Möglichkeit einer Verarmung an Chlorophyll nicht erst beim Aufhören der Vermehrung gegeben ist. Wie ich später zeigen werde, ist das in geringem Maße auch bei Oscillarien der Fall, sodaß ich es für berechtigt halte, die Erfahrungen an *Haematococcus*, *Scenedesmus*, *Raphidium*, *Euglena gracilis*, *Euglena sanguinea*, Cyanophyceen und anderen Algen zusammen zu fassen und zu verallgemeinern, wie das schon oben geschehen ist[1]): Eine Verarmung an Chlorophyll unter Hervortreten der gelben bis roten karotinartigen Farbstoffe findet bei Algen vielfach dann statt, wenn durch eine reichliche Vermehrung der Vorrat an verfügbaren Nährsalzen, besonders Stickstoffsubstanzen knapp wird.

Für die Ernährung im Dunkeln sind, wie auch Zumstein fand, Pepton Witte, Fleischextrakt, Erbsenwasser, also peptonhaltige Stoffe besonders geeignet. Dabei tritt stets eine Reduktion des Chlorophyllgehaltes auf, die aber ausbleibt, wenn keine Vermehrung stattfindet (vgl. auch Abschn. I, Versuch V S. 17). Die Euglenen sind nicht im Stande, im Dunkeln Blattgrün zu bilden, ganz so wie höhere Pflanzen. Man kann z. B. in Fleischextraktlösungen beliebig viele Generationen in völliger Finsternis ziehen. Die erste Dunkelkultur zeigt wohl noch einen grünlichen Schimmer in den Euglenen. Die späteren weisen nur völlig farblose Individuen auf, oder vielmehr die kleiner gewordenen Chromatophoren enthalten nur noch die gelben Farbstoffe, auch hierin an die Chloroplasten etiolierter Blütenpflanzen erinnernd. Schließlich können die Chromatophoren auch ganz verschwinden. Genau dasselbe findet in Erbsenwasser statt. Dabei haben die Euglenen aus Dunkelkulturen viel Paramylongehalt, mehr sogar, als wenigstens anfangs die aus Lichtkulturen. Das Paramylon stammt also nicht immer nur von der Kohlensäurereduktion her.

Wie wir schon früher gesehen haben, ist ein Wachstum im Dunkeln auch bei nicht besonders üppiger Ernährung möglich.

Es sei hier an die Kulturen auf schrägerstarrtem Agar verschiedener Mischung erinnert (vgl. S. 20). So werden z. B. die Euglenen fast völlig farblos bei Kultur im Dunkeln auf Maisagar, Maisfaulagar, Ammonphosphatagar.

Hauptsächlich der letzte Befund ist auffallend, denn es geht aus ihm hervor, daß die Euglenen dem Agar genug organische Stoffe entnehmen können, um eine merkliche Vermehrung zu erfahren. Es wurde deshalb an ihn noch eine Versuchsreihe angeknüpft, in der

---

[1]) Vgl. S. 3) u. O. Richter, Die Ernährung der Algen, Leipzig 1911, S. 56/57.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

der Agar verschiedene Nährstoffe beigemischt erhielt. Auch wurde gewässerter Agar zum Vergleich mit dem im oben zitierten Versuche verwendeten ungewässerten herangezogen.

II. 24. April 1912:

1. Ungewässerter Agar mit 0,1 % $(NH_4)_2HPO_4$, 0,02 % $MgSO_4$ und 0,02 % K_2HPO_4.
2. Gewässerter Agar mit 0,1 % $(NH_4)_2HPO_4$, 0,02 % $MgSO_4$ und 0,02 % K_2HPO_4.
3. Ungewässerter Agar mit Erdeauszug, 0,1 % $(NH_4)_2SO_4$, 0,02 % $MgSO_4$ und 0,02 % KH_2PO_4.
4. Gewässerter Agar mit 0,1 % KNO_3, 0,02 % $MgSO_4$ u0, 02 % K_2HPO_4.
5. Ungewässerter Agar mit Erdeauszug, 0,1 % KNO_3, 0,02 % $MgSO_4$ und 0,02 % K_2HPO_4.

In Reagensgläsern schräg erstarrter Agar, geimpft durch Ausstreichen eines Tropfens aus einer Fleischextraktlösung mit viel Euglenen. Je ein Röhrchen am Nordfenster und eins im Dunkeln.

Ergebnis am 10. Mai 1912:

Hellkulturen:

1. Zahlreiche kleine grüne Punkte. 2. —. 3. Ähnlich wie 1, noch besser. Kondenswasser grün. 4. —. 5. Wenige winzige Punkte.

Dunkelkulturen —.

22. Mai 1912:

Hellkulturen:

1. Die Punkte größer geworden. 2. —. Frisch beimpft aus 3. 3. Schon ganz üppig. Kolonien größer ausgebreitet. 4. —. Frisch beimpft aus 3. 5. Unverändert.

Dunkelkulturen:

1, 3 und 5 zeigen zahlreiche gelbe Punkte; 2 und 4 —.

3. Juli:

Hellkulturen:

1. Kolonien trocken, tiefgrün, klein. 2. —. 3. Kolonien größer als bei 1, sonst ähnlich. 4. —. 5. Wie 1.

Dunkelkulturen:

1. Sehr viele zitronengelbe Punkte, Ausdehnung der Kolonien nicht geringer als am Licht. 2. —. 3. Wie 1. 4. —. 5. Wie 1. 1—3 nun ans Licht, nach 2 Tagen schon deutlich grünlich.

Der Versuch zeigt deutlich, daß irgendwelche Stoffe im Agar, die sich auswässern lassen, die Entwickelung der Euglenen stark fördern, während sie z. B. die Desmidiaceen so sehr hemmen[1]). Diese offenbar organischen Stoffe erlauben den Euglenen sogar Wachstum im Dunkeln, wobei die Natur der zugesetzten Nährsalze und sogar der Erdeauszug ziemlich gleichgültig ist[2]). Die bessere Entwickelung in 3 dürfte der schwach sauren Reaktion im Gegensatz zu

[1]) I. Mitt., Diese Beitr., Bd. XI, S. 323 u. 325.

[2]) Vgl. auch Versuch I vom 21. Juni 1910, S. 19.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

schwach basischen der anderen Kulturen zuzuschreiben sein. Die Euglenen sind im Dunkeln chlorophyllfrei. Auch bilden sie unter diesen Umständen kein Hämatochrom. Die gelbe Farbe der reduzierten, „etiolierten" Chromatophoren bedingt das grellgelbe Aussehen der Kolonien, die am Lichte rasch ergrünen. Ganz ähnlich ist das Verhalten in solchen Flüssigkeitskulturen, die überhaupt im Dunkeln Entwickelung erlauben, nur daß die Veränderung der Farbe dem bloßen Auge dann nicht so deutlich ist.

Damit wäre das, was ich Zumsteins Beobachtungen über Chlorophyllschwund bei *Euglena gracilis* hinzuzufügen hätte, beendet. Man ersieht daraus, daß der Verlust des grünen Farbstoffes drei Ursachen haben kann, nämlich kurz gesagt:

1. Dunkelkultur. 2. Üppige Ernährung. 3. Stickstoffmangel.

Was das Vorkommen farbloser Individuen sonst grüner Euglenenarten in der Natur anbelangt, so dürfte der dritte Fall am ehesten Aussicht haben, verwirklicht zu sein. Im übrigen ist die Ökologie dieser höchst anpassungsfähigen Organismen recht verwickelt. Euglenen kommen besonders da vor, wo Pflanzenreste sich zersetzen. Bei Mangel an Nährstoffen runden sie sich ab und können so recht lange lebensfähig bleiben, um bei Zufuhr von Nahrungsstoffen zu neuer Tätigkeit zu erwachen. Auch durch Wassermangel z. B. in älteren Agarkulturen werden sie in einen Zustand latenten Lebens übergeführt, der sich von dem vorigen schon durch die Schleimhüllen um die Zellen unterscheidet. Dann aber ist ein Unterschied auch dadurch gegeben, daß die aus Mangel an Nahrungsstoffen unbeweglich gewordenen Euglenen in reinem Wasser nicht beweglich werden, sondern dazu einer geeigneten Nährlösung bedürfen, worüber ich zahlreiche Versuche angestellt habe[1]). Die bei Wassermangel eingekapselten Euglenen dagegen können durch Übergießen mit Wasser wieder zum Schwärmen gebracht werden. Dieselben Unterschiede habe ich bei *Chlamydomonas*arten und *Haematococcus pluvialis* beobachtet, deren Ökologie ganz entsprechend liegt. Wenn man also durch Übergießen trockenen Materiales von *Haematococcus* u. a. frische Schwärmer erhält, so stammt das Material aus eingetrockneten Tümpeln. Die zur Ruhe gekommenen „Akineten" aus alten Flüssigkeitskulturen schwärmen in Wasser nicht aus, auch wenn man sie nachträglich hat trocknen lassen. Es ist das auch sehr begreiflich. Die einen haben sich auf die Konzentrationszunahme der „Nährlösung" hin, vollgepfropft mit Reservestoffen, zur Ruhe begeben. Die anderen sind aufs äußerste ausgehungert. Entsprechend keimen Euglenen, die in Dunkelkulturen zur Ruhe gekommen sind, ohne Änderung der

[1]) Vgl. auch Zumstein a. a. O. S. 173.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Nährlösung am Licht aus[1]). Das Fehlende wird ergänzt, und der Organismus erwacht zu neuem Leben[2]).

J. Zusammenfassung.

Wenn ich am Schlusse einige Ergebnisse meiner Arbeit zusammenstelle, so geschieht das am besten, indem ich die Ergänzungen zu Zumsteins Befunden anführe und die Abweichungen im Verhalten meines Stammes von *Euglena gracilis* gegenüber dem seinen betone:

1. Aufgüsse von Pflanzenteilen bewirken die üppigste Entwickelung von *Euglena gracilis* in Gemeinschaft mit Bakterien und Pilzen.

2. Anorganische Nährsalzlösungen erlauben bei gutem Lichte ein vortreffliches Wachstum, falls nur die geeignete Reaktion, d. h. H-Jonenkonzentration innegehalten wird.

3. Reinkulturen sind durch Übertragen in saure Lösungen schwer zu erzielen, weil dann Faden- und Sproßpilze auftreten. Dagegen gelingt die Isolierung leicht durch Plattenguß, am besten mit 0,1 prozentigem Asparaginagar.

4. Zum Weiterzüchten der Reinkulturen empfiehlt sich 0,1 prozentiger Ammonphosphatagar oder Fleischextraktlösung von 0,5 % Gehalt.

5. Organische Stickstoffverbindungen, besonders Peptone, fördern das Wachstum stark, das dann auch im Dunkeln vor sich geht. Zucker und Zitronensäure erwiesen sich bei mir als wertlos.

6. Säure wird von meinem Euglenenstamme nur in geringer Menge ertragen. Doch ist schwachsaure Reaktion sehr förderlich, basische schädlich.

7. Eine Reduktion der Chromatophoren tritt nicht nur bei üppiger Ernährung und im Dunkeln ein, sondern auch bei Mangel geeigneter Stickstoffversorgung, falls sonst die Vermehrungsbedingungen günstig sind.

[1]) Zumstein, ebenda.

[2]) Die soeben erschienene Arbeit von Ch. Terretz, Beitr. zur Morphologie u. Physiologie der *Euglena gracilis*, Klebs, Jahrb. f. wissensch. Bd. LI, 1912, S. 435, konnte leider nicht mehr berücksichtigt werden.

Inhalts-Übersicht.

A. Vorversuche 1
B. Rohkulturen in Aufgüssen von Pflanzenteilen 3
C. Rohkulturen in Lösungen von besser bekannter Zusammensetzung 10
D. Reinkulturversuche 14
E. Reinkulturen auf festem Substrat 19
F. Kulturen in Nährsalzlösungen 23
G. Reinkulturen in organischen Nährlösungen 27
H. Die Reduktion der Chromatophoren 38
J. Zusammenfassung 46

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Figurenerklärung.

Tafel I *(Euglena gracilis).*

Fig. 1. Zu S. 7. Pergamenthülse mit Peptonlösung in euglenenhaltiger Flüssigkeit. Die Flagellaten sind über den Wasserspiegel emporgekrochen und bilden einen grünen Ring. Verkleinert.

Fig. 2. Zu S. 18. Lockere Kolonien auf Asparaginagar. Leitz Obj. 1*, Ok. I. Vergr. 17.

Fig. 3. Zu S. 18. Dichte, traubige Kolonie auf Agar mit Maisabkochung. Leitz Obj. 1*, Ok. I. Vergr. 17.

Fig. 4. Zu S. 19. Ausbreitung auf Asparaginagar bei Oberflächenimpfung. Leitz Obj. 1*, Ok. I. Vergr. 17.

Fig. 5. Zu S. 16. Förderung der Euglenen durch Bakterien (der schwarze Klex) auf Maisagar. Leitz Obj. 3, Ok. I. Vergr. 50.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Fig. 1

Fig. 2

Fig. 3

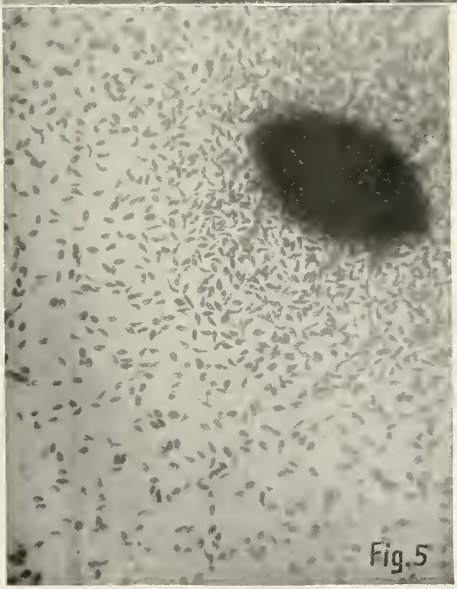

Fig. 5

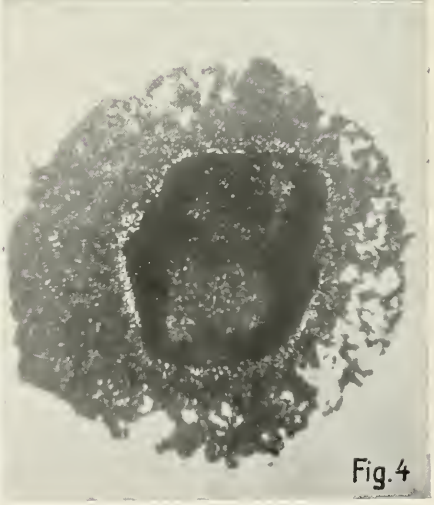

Fig. 4

E. Pringsheim phot. *Louis Gerstner, Kunstanstalt, Leipzig.*

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Beiträge zur Biologie der Pflanzen

Jahr/Year: 1913

Band/Volume: 12_1

Autor(en)/Author(s): Pringsheim Ernst Georg

Artikel/Article: Kulturversuche mit chlorophyllführenden Mikroorganismen 1-47