

Die Kultur von *Paramaccium Bursaria*.

Von Ernst G. Pringsheim.

Unter den Fällen eines Zusammenlebens von chlorophyllführenden mit chlorophyllfreien Organismen gibt es alle Übergänge von ganz lockerer bis zu innigster Gemeinschaft. Die engsten physiologischen Wechselbeziehungen darf man wohl zwischen gewissen Tieren und den in ihnen lebenden Zoochlorellen und Zooxanthellen erwarten. Ist es doch hier sogar so weit gekommen, dass die Algen sich im Protoplasma der artfremden Zellen aufhalten und vermehren, ein Umstand, auf den auffallenderweise noch niemand deutlich genug hingewiesen zu haben scheint. Überhaupt ist die Literatur auf diesem Gebiete, wie auch die über Flechtensymbiose in den letzten 25 Jahren äußerst spärlich. Was weiter auffällt ist, dass Botaniker sich mit den Zoochlorellen und Zooxanthellen fast gar nicht beschäftigt haben¹⁾. Nur Haberlandt²⁾ hat die Algen von der Turbellarie *Convoluta Roscoffensis* genauer untersucht und auch Kulturversuche unternommen.

Und doch liegen zahlreiche Fragen vor, die eine eingehendere Beschäftigung mit dem Gegenstande lohnend erscheinen lassen. Hier soll aber nicht darauf eingegangen werden, wie die Algen es anfangen, der Verdauung zu entgehen, der doch alle freilebenden Verwandten in denselben tierischen Zellen verfallen. Auch die Stellung der Zoochlorellen und Zooxanthellen im System sowie die Verhältnisse bei der Fortpflanzung sollen hier nicht untersucht werden. Das biologische Hauptproblem bleibt doch immer, welchen Nutzen die beiden Symbionten, besonders die Tiere, von dem Zusammenleben haben. Über die ökologische Bedeutung der Symbiose sind wir eigentlich noch in keinem einzigen Falle genügend unterrichtet, nicht einmal bei den am meisten untersuchten Flechten, da wir nicht wissen, ob sie ganz von den Assimilaten der Gonidien leben oder auch organische Stoffe von außen aufnehmen, wofür ja die Erfahrungen an Reinkulturen der Flechtenalgen zu sprechen scheinen. Auch die Bedeutung der Knöllchenbakterien für die Leguminosen ist bekanntlich nicht ganz aufgeklärt, da sie in Reinkultur bisher nicht sicher zur Stickstoffbindung gebracht werden konnten.

Die Meinung der meisten Forscher geht nun wohl dahin, dass die zoochlorellenführenden Tiere nicht nur von dem durch die Algen gebildeten Sauerstoff, sondern auch von den Assimilationsprodukten organischer Natur Nutzen ziehen. Um diese Auffassung zu er-

1) In den Sachverzeichnissen von Pfeffer's und Jost's Pflanzenphysiologie findet sich das Wort „Zoochlorella“ nicht.

2) G. Haberlandt, Über den Bau und die Organisation der Chlorophyllzellen von *Convoluta Roscoffensis*; als Anhang zu L. v. Graff's Organisation der *Turbellaria ucoela*, Leipzig 1891.

härten, sind von verschiedenen Forschern, so von Brandt³⁾ mit *Stentor polymorphus*, *Spongilla*, *Hydra*, *Actinien* u. a., von v. Graff⁴⁾ mit *Hydra viridis*, von Gruber⁵⁾ mit *Amoeba viridis* Züchtungsversuche angestellt worden, in denen feste Nahrung durch Filtrieren des Kulturwassers ausgeschaltet werden sollte. Abgesehen davon, dass kleinste Lebewesen durch Papierfilter gehen, ist mit Ausnahme des Gruber'schen Versuches immer nur ein meist nicht einmal lange dauerndes Weiterleben, niemals aber eine Vermehrung der betreffenden Tiere beobachtet worden. Nun ist es aber bekannt, dass z. B. Hydren ein monatelanges Hungern vertragen. Beweisend für genügende Ernährung der algenbergenden Tiere durch die Symbionten wäre daher nur ein dauerndes Gedeihen mit ungehinderter Fortpflanzung. Auch Haberlandt⁶⁾, der seine Convoluten in eine Algenmüchrlösung brachte, beobachtete nur eine Vermehrung der Zoochlorellen im Wirte, nicht aber ein wirkliches Gedeihen der Würmer.

Um zunächst einmal bei einem Zoochlorellen führenden Tier die Ansprüche kennen zu lernen, die es an die Ernährung stellt, nahm ich mit *Paramaecium Bursaria*, das mir geeignet erschien, Kulturversuche vor. Dass die angedeutete Frage bisher nicht als gelöst zu betrachten ist, geht am klarsten aus der neuesten und sehr eingehenden Übersicht über das Zoochlorellenproblem hervor, die von Biedermann⁷⁾ herrührt: „Maupas konstatierte bei *Paramaecium Bursaria* reichliche Aufnahme von Bakterien, Flagellaten und Zoosporen und fand die Tiere gelegentlich sogar ganz mit grünen Euglenen erfüllt. Auch fand er, dass die Vermehrung von *Paramaecium Bursaria* im Dunkeln genau so reichlich erfolgte wie im Licht. Dies beweist aber, wie Bütschli bemerkt, unwiderleglich, dass die Zoochlorellen bei der Ernährung dieses Infusors eine nur ganz geringfügige, wenn überhaupt eine Rolle spielen. ‚Da aber gerade diese Art eine der typischsten und regelmäßigsten Zoochlorellaten ist, so dürfte der Schluss nicht zu gewagt erscheinen, dass auch die übrigen sich entsprechend verhalten.‘ Bütschli hält es daher für sehr zweifelhaft, ja unwahrscheinlich, dass die Ciliaten von dem Überschuss der Assimilationsprodukte (speziell

3) K. Brandt, Über die morphologische und physiologische Bedeutung des Chlorophylls bei Tieren. 1. Teil. Archiv für Anatomie und Physiologie. Physiolog. Abt. 1882. 2. Teil. Mitteil. aus der zool. Station zu Neapel, Bd. IV, 1883.

4) L. v. Graff, Zur Kenntnis der physiolog. Funktion des Chlorophylls im Tierreich. Biolog. Centralbl. 1884, S. 745 (Ref. aus Zoolog. Anz. von G. Klebs).

5) A. Gruber, Über *Amoeba viridis*, Festschrift für Weismann, Suppl.-Zool. Jahrb., 1904, S. 67.

6) A. a. O.

7) W. Biedermann, Physiologie des Stoffwechsels, 1. Hälfte in Winterstein's Handb. d. vergl. Physiologie, Bd. II, Jena 1911, S. 415.

der Kohlehydrate) ihrer Zoochlorellen ernährt werden, wie Brandt und Entz annehmen'“.

Paramaecium Bursaria trat im Winter 1914/15 in einer Charakultur im Laboratorium auf, die vor Jahren aus Stecklingen in mit Wasser überdeckter Erde erzogen worden war und nur einige Algenfäden, aber keine Fäulnisorganismen u. dergl. enthielt. Die deutlich am Licht angesammelten Infusorien wurden mit einer Pipette in eine verdünnte, ganz hellgelbliche Erdabkochung übertragen, wo sie sich am Nordfenster einige Wochen hielten und dem Augenschein nach auch vermehrten, doch traten die verschiedenartigsten Algen und anderen Mikroorganismen daneben auf. Aus dieser Rohkultur wurden Tropfen unter das Mikroskop gebracht und die Paramaecien mit einer ausgekochten Kapillarpipette einzeln in sterile Wassertropfen übertragen. Durch mehrmalige Wiederholung dieses Verfahrens wurden die Infusorien abgewaschen und schließlich in Erlenmeyerkölbchen mit verschiedenen sterilen Nährlösungen übertragen. In einigen von diesen trat nach ein paar Wochen eine deutliche Vermehrung auf; aber auch die lange Zeit rein aussehenden Kulturen wurden schließlich durch ziemlich üppig wuchernde Algen (*Pleurococcus* spec.) verunreinigt, so dass ich vermutete, diese möchten vielleicht von den Zoochlorellen abgestorbener Paramaecien herkommen. Jedenfalls waren diese Versuche nicht beweisend, denn wenn überhaupt freie Algen auftreten, so können die Paramaecien auch von ihnen gelebt haben.

Ist diese Vermutung richtig, so ist der ganz zwingende Beweis für die Ernährung des *Paramaecium Bursaria* durch seine pflanzlichen Insassen überhaupt nicht zu erbringen, da eine durch dauernde Überwachung gewährleistete Ausschließung der Aufnahme geformter Nahrung wohl kaum zu erzielen ist. Für einen durchaus bindenden Nachweis muss die algenartige, also autotrophe Ernährung des Zoochlorellaten in rein anorganischer Nährlösung unter Ausschluss anderer autotropher Organismen gefordert werden. Eine absolute, also auch bakterienfreie Reinkultur ist dagegen nicht nötig, da die heterotrophen Bakterien ja nicht die Menge organischer Substanz in der Flüssigkeit erhöhen, also auch nicht die Grundlage für eine Vermehrung der Infusorien in einer mineralischen Nährlösung bilden können.

Diese Forderung konnte nun durch wiederholte Übertragung und Reinigung der Paramaecien auf die geschilderte Weise schließlich doch erfüllt werden. Die Ausschaltung fremder Algen gelang sogar verhältnismäßig leicht, da die Infusorien infolge ihrer lebhaften Beweglichkeit alle fremden Keime abstreifen und beim Herauspipettieren die algenhaltige Bodenschicht nicht berührt zu werden braucht. Ich erzielte üppige Kulturen von mindestens mehreren hundert Exemplaren aus zwei hineinpipettierten in einer Nährlösung, die 0,02 %

$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, 0,002 % $\text{MgSO}_4 + 7\text{H}_2\text{O}$, 0,002 % K_2HPO_4 , 0,02 % NaCl und eine Spur FeSO_4 in doppelt destilliertem Wasser enthielt. Dass dabei der Reinheit der Gefäße und Salze besondere Sorgfalt zuteil wurde, braucht kaum besonders betont zu werden. Die Vermehrung war auch zu lebhaft, als dass sie Spuren von Verunreinigung aus der Lösung, vom Glase oder aus der Luft zugeschrieben werden könnte. Bei geringer Einsaat dauert es allerdings ein paar Wochen, bis ein leicht sichtbares Ergrünen der ganzen Kultur auftritt, doch kann man nach einiger Übung auch mit bloßem Auge, besser mit einer Lupe, die einzelnen Exemplare zählen, so lange noch wenige vorhanden sind. Eine Verunreinigung durch fremde Algen tritt nun nach mehrmonatiger Beobachtungszeit nicht mehr ein. Es kann demnach bestimmt behauptet werden, dass *Paramaccium Bursaria* von seinen Zoochlorellen ganz und gar ernährt werden kann und der Aufnahme geformter oder gelöster organischer Stoffe von außen zu seinem Gedeihen nicht bedarf.

Die vorübergehend auftauchende Vermutung, dass die in den Kulturen auftretenden Algen von freigewordenen Zoochlorellen stammten, ist schon dadurch widerlegt, dass die schließlich erzielten Reinkulturen 5 Monate lang algenfrei blieben, obgleich doch sicherlich immer einzelne Paramaccien abgestorben sein werden. Das spricht aber auch gegen die Möglichkeit einer Isolierung der Zoochlorellen, da günstigere Bedingungen kaum erzielt werden könnten. Ein Bedarf an organischen Stoffen kann ja nicht vorliegen. Dementsprechend missglückten alle Versuche, die Algen für sich zur Vermehrung zu bringen. Das gelang weder mit den zerdrückten Paramaccien in der oben genannten Nährlösung, noch auf Kieselgallerte und Nährsalzagar, erprobten Algennährböden, auf denen die Infusorien nach dem Verschwinden des Flüssigkeitstropfens, mit dem sie aufgebracht wurden, zerflossen. Bei diesem Verfahren konnte man mikroskopisch verfolgen, wie die anfangs grünen Algenzellen schon nach wenigen Tagen abblassten und starben. Auch vor diesen Veränderungen von Kieselgallerte in Lösungen übergeimpfte Zoochlorellen gingen nicht an. Da dies mir die mildeste Methode der Isolierung zu sein scheint, halte ich die Zoochlorellen von *Paramaccium* für nicht getrennt kultivierbar. Auch von Paramaccien, die in verflüssigten und auf 40° abgekühlten Agar der verschiedensten Zusammensetzung, mit und ohne Glukose und organischen Stickstoff, übertragen wurden, sah ich nie Algenkulturen ausgehen. Dasselbe fand Haberlandt bei den Algen von *Convoluta*, die den Wirt nicht überleben, sondern stets mit ihm zugrunde gehen. Die früheren, mit viel roheren Methoden erzielten scheinbaren Erfolge von Entz⁸⁾ u. a. dürften also auf Irrtum durch Verunreinigung beruhen.

8) G. Entz, Das Konsortialverhältnis von Algen und Tieren. Biol. Centralbl. Bd. II, 1882, S. 451.

Um einer vorzeitigen Verallgemeinerung der an *Paramacium Bursaria* gemachten Erfahrungen vorzubeugen, will ich gleich berichten, dass mir bei *Hydra viridis* eine rein autotrophe Ernährung bisher nicht geglückt ist. Die freilich noch spärlichen Versuche wurden in der oben geschilderten Weise angestellt. Es gelang auch, die fremden Algen fernzuhalten und die Hydren über ein Vierteljahr zu erhalten. Schließlich aber schrumpften sie unter Verkürzung der Tentakeln zu grünen Kügelchen ein, verhielten sich also nicht viel anders als algenfreie Hydren unter entsprechenden Verhältnissen. Dass die geprüften Nährlösungen an sich nicht schädlich waren, ergibt sich daraus, dass die Hydren sich darin mehr als dreimal so lange hielten als in dem filtrierten Kulturwasser von Brandt. Das allmähliche Einschmelzen des Körpers und besonders der Fangarme hat auch Brandt⁹⁾ beobachtet, daraus aber den Schluss gezogen, dass „die grünen Hydren nicht allein gar keine Nahrung mehr aufzunehmen brauchen, sondern dass sie sogar auch das Vermögen, andere Tiere festzuhalten und in die Leibeshöhle hineinzuziehen, gänzlich aufgeben.“ Später allerdings¹⁰⁾ gibt er zu, dass die Verringerung der Körpermasse bei Hydren u. a., wenn sie ausschließlich auf die Ernährung seitens ihrer Algen angewiesen sind, darauf hinweist, dass diese Tiere nicht dauernd auf jede Fleischnahrung verzichten können. In diesem Sinne sprechen auch Versuche von v. Graff.

So dürfte also G. Entz recht behalten, wenn er sagt, dass manche Infusorien, z. B. *Paramacium Bursaria*, mit der Ernährung durch die Algen ganz zufrieden sind, während *Hydra viridis* das nicht genügt. Sie ist auch trotz dem Nahrungsvorrat, welchen sie in ihrem Innern beherbergt und züchtet, doch recht gefräßig und steht den farblosen Arten darin durchaus nicht nach

Nils Holmgren's „Termitenstudien“.

IV. Versuch einer systematischen Monographie der Termiten der orientalischen Region.

276 S. 4°, mit 8 fotogr. Tafeln und 14 Abbildungen im Texte. Separ. aus: K. Sv. Vetensk. Handl. L, Nr. 2, Upsala und Stockholm 1913.

Von E. Wasmann S. J. (Valkenburg, Holland).

Der I. Teil der umfassenden „Termitenstudien“ N. Holmgren's (1909), der sich mit der äußeren Morphologie und der Anatomie der Termiten beschäftigte, ist im Biol. Centralbl. 1910 Nr. 9 (S. 303—310) besprochen worden; ebenso der II. und III. Teil

9) K. Brandt, a. a. O., 1882, S. 144.

10) K. Brandt, Über Chlorophyll im Tierreich. Kosmos, 8. Jahrg., Bd. XIV, 1884, S. 183.

11) G. Entz, a. a. O., S. 463.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Biologisches Zentralblatt](#)

Jahr/Year: 1915

Band/Volume: [35](#)

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

Artikel/Article: [Die Kultur von Paramaecium Bursaria. 375-379](#)