

ZUR
PHYSIOLOGIE DER DIATOMEEN
(II. MITTEILUNG)
DIE BIOLOGIE DER NITZSCHIA PUTRIDA BENECKE

VON
DR. OSWALD RICHTER,
PRIVATDOZENT.

AUS DEM PFLANZENPHYSIOLOGISCHEN INSTITUTE DER K. K. DEUTSCHEN UNIVERSITÄT
IN PRAG NO. 118 DER 2. FOLGE.

Mit 4 Tafeln, 6 Textfiguren, 2 Haupt- und 7 Texttabellen.

VORGELEGT IN DER SITZUNG AM 22. OKTOBER 1908.

Inhaltsangabe.

	Seite
Einleitung	4 [660]
Historisches über das gelegentliche Vorkommen und über Rohzuchten farbloser Diatomeen	4 [660]
I. Die Gewinnung von Reinkulturen der <i>Nitzschia putrida</i> Benecke	6 [662]
II. Die Notwendigkeit des Natriums für die farblose Meeresdiatomee <i>N. p. B.</i> :	10 [666]
a) Versuche zur Ermittlung der Grenzkonzentrationen des ClNa, die von der <i>N. p. B.</i> vertragen werden, und zur Ermittlung des Optimums für ihre Entwicklung	11 [667]
1. Die tabellarischen Zusammenstellungen der Ergebnisse, Tab. I u. II	12 [668]
2. Zusammenfassung der Ergebnisse der Versuche über die Grenzkonzentration des ClNa und die optimalen Kochsalzdosen für die Zucht der <i>N. p. B.</i>	12 [668]
b) Versuche über die Bedeutung des ClNa für die <i>N. p. B.</i>	13 [669]
1. Versuche insbesondere mit verschiedenen Chloriden	13 [669]
Ein anscheinend widersprechender Versuch	14 [670]
2. Versuche mit verschiedenen Natriumsalzen	15 [671]

	Seite
III. Die organische Ernährung der <i>Nitzschia putrida</i> Benecke.	18 [674]
Bildung der Varietas <i>gomphonemiformis</i> und Plasmodienbildung infolge mangelhafter Ernährung	20 [676]
IV. Die bisherigen Erfahrungen über die Kieselsäureernährung der farblosen Diatomee <i>N. p. B.</i>	22 [678]
V. Die Reaktion der Nährlösung und des Nährbodens	25 [681]
VI. Einfache Rezepte zur Darstellung passender Nährböden für die Kultur der <i>N. p. B.</i>	27 [683]
VII. Über das Verhalten der <i>N. p. B.</i> gegen den atmosphärischen und den in der Nährlösung absorbierten Sauerstoff	31 [687]
VIII. Auxanogramme	36 [692]
IX. Versuche über Oligodynamie	38 [694]
X. Ausscheidungen der <i>N. p. B.</i>	39 [695]
1. Versuche über die Ausscheidung von Fermenten	39 [695]
a) Ausscheidung eines proteolytischen Enzyms	39 [695]
b) » » agarlösenden Fermentes	43 [699]
c) » » kieselsäurelösenden Fermentes	44 [700]
d) » » von Giftstoffen für Pilze (?)	44 [700]
2. Versuche über die Ausscheidung von Alkali, vgl. Kap. V, p. 25 [681]	44 [700]
XI. Der Einfluß der Temperatur auf die <i>N. p. B.</i>	45 [701]
1. Versuche über den Einfluß höherer Temperaturgrade	45 [701]
2. » » » » niederer » 	46 [702]
XII. Der Einfluß des Lichtes auf die <i>N. p. B.</i>	48 [704]
XIII. Die Vermehrungsweise der <i>N. p. B.</i>	53 [709]
1. Das Teilungsgesetz und die Teilungsgeschwindigkeit der farblosen Diatomee	53 [709]
Historisches	53 [709]
Eigene Untersuchungen an der <i>N. p. B.</i>	55 [711]
2. Die Bestimmung der vorherrschenden Länge der Diatomeen nach einer bestimmten Anzahl von Impfungen	62 [718]
3. Das Gesetz von der Erhaltung des Volums bei der Teilung der <i>N. p. B.</i>	68 [724]
XIV. Über die Bewegung der <i>N. p. B.</i> und den Verlust ihres Bewegungsvermögens bei längerer Zucht	76 [732]
XV. Schleimabsonderungen der <i>N. p. B.</i> und ihr Verschwinden bei der Reinzucht	78 [734]
XVI. Zur Histologie der <i>N. p. B.</i>	79 [735]
1. Kern und Kernverschmelzung ?	79 [735]
2. Plasma	79 [735]
Das Schwarzwerden der Diatomeen bei gehemmtem O-Zutritt	80 [736]
3. Leukoplasten	80 [736]
4. Elaioplasten	80 [736]
5. Fett	81 [737]
Speckglanz	81 [737]
6. Membran	82 [738]
Die Auflösbarkeit der Kieselsäuremembran der <i>N. p. B.</i> durch das Plasma	83 [739]
Chemie der Membran	83 [739]
Umhütung der Plasmodien	84 [740]
Färbung der Diatomeenmembran mit Neutralrot	85 [741]

	Seite
XVII. Zur Frage der Reizplasmolyse bei der <i>N. p. B.</i>	87 [743]
XVIII. Die Vitalfärbung der <i>N. p. B.</i>	88 [744]
Lebensreaktion	89 [745]
Die Vitalfärbung mit Neutralrot, ein Mittel zur Feststellung der Zusammengehörigkeit der Variationsformen der <i>N. p.</i>	90 [746]
Die Vitalfärbung mit Neutralrot, ein Mittel zur Feststellung der osmotischen Saugwirkung der Zellen	90 [746]
Die Vitalfärbung im Dienste von Teilungsstudien	90 [746]
XIX. Auffallende Variationen der rein gezüchteten farblosen Diatomee	91 [747]
Plasmodien	97 [753]
Die experimentelle Erzeugung der Plasmodien	101 [757]
Überimpfungsversuche mit Plasmodienmaterial	102 [758]
Anhang	103 [759]
XX. Über die Abhängigkeit der Kolonieform von der Form der Individuen	104 [760]
1. Der <i>Nitzschia</i> -Typus	104 [760]
Einfluß der Agarkonzentration auf die Kolonieform des <i>Nitzschia</i> -Typus	105 [761]
Einfluß von Giften auf die Kolonieform des <i>Nitzschia</i> -Typus	105 [761]
Einfluß des ClNa-Gehaltes auf die Kolonieform des <i>Nitzschia</i> -Typus	106 [762]
2. Der <i>Navicula</i> -Typus	106 [762]
3. Der <i>Gomphonema</i> -Typus	106 [762]
4. Der <i>Plasmodien</i> -Typus	107 [763]
5. Beschreibung der Kulturen der <i>N. p. B.</i> (var. <i>gigas</i> u. <i>longa</i>)	108 [764]
Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse der vorliegenden Arbeit	110 [766]
Autorenregister	113 [769]
Tafel- (Figuren-) Erklärung	116 [772]

Zur Physiologie der Diatomeen.

(II. Mitteilung.)

Die Biologie der *Nitzschia putrida* Benecke.

Die erste Mitteilung¹ befaßte sich vorzugsweise mit der Physiologie der im Jahre 1903² rein-gezüchteten braunen Süßwasserdiatomeen und konnte nur im Vorbeigehen³ einige Ergebnisse über das Kochsalzbedürfnis brauner Meeresdiatomeen streifen.

Seither ist es nun auch gelungen, eine farblose Meeresdiatomee⁴ in Reinzucht zu erhalten, die am Beginne der Zucht morphologisch der *Nitzschia putrida* Benecke am meisten gleicht, jedoch nicht ganz in den Größenverhältnissen mit ihr übereinstimmt. Aus Gründen, die in einem der folgenden Kapitel⁵ erörtert werden sollen, sind aber solche Maßunterschiede von gar keinem Belang, so daß die Diatomee als *Nitzschia putrida* Benecke bezeichnet werden mag. Bezüglich meiner Bestimmung bin ich um so beruhigter, als nach Karsten⁶ bei dieser Diatomee selbst Größenunterschiede von 26 bis 100 μ nicht über das durch die Auxosporenbildung ausgleichbare Maß hinausgehen.

Seitdem Cohn⁷ im Jahre 1854 das Vorkommen farbloser Diatomeen an faulenden Meeresalgen aus dem Hafen von Triest verzeichnet hatte, mehrten sich die Angaben über die gelegentlichen Beobachtungen dieser farblosen Kieselschaler. Genannt seien Miquel, Provazek, Karsten, Berthold Klebs, Lanzi, Palla und Benecke,⁸ in dessen monographischer Bearbeitung der farblosen Diatomeen die genaueren Literaturangaben⁹ nachgesehen werden mögen.

Wie der Abschnitt »Kulturversuche«¹⁰ der angeführten Arbeit dartut, hat sich auch schon Benecke bemüht, mit Hilfe von Rohkulturen einen, wenn auch bloß oberflächlichen Einblick in die Physiologie der farblosen Diatomeen zu gewinnen. Er konnte mit Bestimmtheit erweisen, daß sie saprophytisch im Dunkeln gedeihen, auch liegen bereits einige Beobachtungen von ihm vor über die Temperatur, die sich für die Entwicklung der Diatomeen besonders geeignet erwies, die Zweckmäßigkeit einer schwach alkalischen Reaktion des Nährsubstrates, Reizplasmolyse u. a. m. Ich werde bei den einzelnen Kapiteln

¹ Richter Oswald, I. Zur Physiologie der Diatomeen. (I. Mitteilung.) Sitzber. d. kais. Akad. d. Wiss. in Wien, mathem. naturw. Klasse, Bd. CXV, Abt. I, Jänner 1906, p. [27], 1.

² Richter Oswald, II. Reinkulturen von Diatomeen. Ber. d. D. bot. Ges. 1903, Bd. XXI, H. 8, p. 493.

³ Richter Oswald, I., l. c., p. [81], 55.

⁴ Richter Oswald, III. Über die Physiologie farbloser Diatomeen; mit Demonstrationen. Verh. d. 78. Vers. deutscher Naturf. und Ärzte in Stuttgart 1906, II. Teil, 1. Hälfte, p. 280.

⁵ Kapitel XIX, p. 91 [747].

⁶ Karsten G., I. Über farblose Diatomeen. Flora, Jahrg. 1901, 89. Bd., Ergänzungsband, p. 425.

⁷ Cohn F., Entwicklungsgeschichte der mikroskopischen Algen und Pilze. Verh. d. k. Leop. Car. Ak. d. Naturforscher, 1854, Bd. 16, p. 1.

⁸ Benecke W., I. Über farblose Diatomeen der Kieler Förde. Jahrb. f. w. B. 1900, Bd. XXXV, H. 3, p. 535. Wie ich bei Karsten G., l. c., gelesen habe, hat auch Mayer P. und Mieh e H. die farblosen Diatomeen im Golf zu Neapel beobachtet.

⁹ Benecke W., I., l. c., p. 537 bis 540.

¹⁰ Benecke W., I., l. c., p. 553.

Gelegenheit haben, die physiologischen Ergebnisse der Benecke'schen Arbeit zu würdigen, die selbstverständlich nur jene Tragweite besitzen, die mit Rohkulturen erzielten physiologischen Ergebnissen überhaupt beizumessen ist.

Da Benecke's farblose Diatomeen Rohmaterial, also mit Bakterien verunreinigt waren und da auch Karsten¹ bei seinen Untersuchungen über das Farbloswerden brauner Süßwasserdiatomeen und denen mit der farblosen *Nitzschia putrida*, die ihn zu den gleichen Ergebnissen geführt haben wie Benecke, kein bakterienfreies Material zur Verfügung stand und seither meines Wissens von anderer Seite keine Arbeit mehr über farblose Diatomeen veröffentlicht worden ist, dürfte es zunächst am Platze sein, einiges über die Erfahrungen bei der Reingewinnung meines Versuchsobjektes zu erwähnen.

¹ Karsten G., l. c., p. 412.

I. Die Gewinnung von Reinkulturen der *Nitzschia putrida* Benecke.

Schon seit mehreren Jahren hatte mich Herr Prof. Molisch wiederholt auf das Vorkommen farbloser Diatomeen auf älteren im Laboratorium des deutschen pflanzenphysiologischen Institutes in Prag stehen gelassenen *Fucus*-Thallomen aus Triest aufmerksam gemacht und mich jedesmal zu deren Kultur aufgemuntert.

Meine Vorversuche nach dieser Richtung gehen somit auf Jahre zurück und wurden unter anderem mit einem *Fucus*-Extrakte durchgeführt, dem 3% Kochsalz zugesetzt worden waren. Auch Kochsalz-Peptonagar, Kochsalz-Mineralsalzagar¹ u. a. m. kamen in Verwendung. Für die Benützung des *Fucus*-Extraktes war hauptsächlich der Umstand maßgebend, daß er sich bei Celli's² Amöbenkulturen so sehr bewährt hatte. Alle diese gelegentlichen Kulturversuche waren ergebnislos, indem wohl reichliche, ja massenhafte Bakterien-, aber keine Diatomeenentwicklung zu sehen war.

Erst im Jahre 1906 wurde die Reinzucht neuerdings mit mehr Konsequenz und mit mehr Glück auf eine neue Art aufgenommen. Da Prof. Molisch gerade mit Versuchen beschäftigt war, Schwefelbakterien in SH₂-Atmosphäre zu kultivieren, und da farblose Diatomeen häufig an Stellen vorkommen, die oft nicht unerheblich nach faulenden Eiern, also nach H₂S-Gas riechen, lag es nahe, H₂S zur Reinzucht der farblosen Diatomeen anzuwenden, und das führte in der Tat zu dem ersehnten Ergebnisse: zur völligen Reinheit der farblosen Diatomee.

Am 28. Februar 1906 wurde von einem alten Stücke von *Fucus serratus* aus einer Triester Sendung, auf dem sich neben Unmassen Bakterien auch farblose Diatomeen entwickelt hatten, abgeimpft und die Kulturschalen in SH₂-Atmosphäre gehalten. Die damals in Anwendung gebrachten Nährböden waren Ca- und Si-freies Mineralsalzagar³ mit 3% ClNa-Zusatz und Peptonagar mit 3% ClNa. Später wurden auch noch Lösungen von Agar in Helgoländer Meerwasser mit Natriumthiosulfat (Na₂S₂O₃) mit und ohne Peptonzusatz ausgeprobt.

Schon am 2. März, somit bereits nach zwei Tagen sah man die erste Entwicklung, am 8. März die erste Kolonie unter dem Mikroskope. Von dieser wurde abgeimpft und am 14. März war in einer Kulturschale dieser Abzuchtung bereits die erste Kolonie makroskopisch sichtbar. Damit war auch die Reinzucht erreicht. Sie hatte also 14 Tage in Anspruch genommen.

Dabei war Entwicklung der farblosen Diatomee nur auf dem Kochsalz-Mineralsalzagar zu bemerken, während sie auf allen organischen Nährböden völlig unterblieb.

Dieses höchst überraschende Ergebnis, das um so auffälliger ist, als sich die farblosen Nitzschien als typische Saprophyten herausgestellt haben, erklärt sich offenbar in einfachster Weise auf die folgende Art:

Bei der Rohimpfung von dem *Fucus*-Fragmente — sie erfolgte durch Übertragen des natürlich mazerierten *Fucus*-Breies mit Glasstäben in das flüssige Kulturagar — kam einfach soviel organische, von den Diatomeen zunächst verwertbare Substanz in das Mineralsalzagar, als gerade für die Entwicklung der Diatomeen ausreichte, den Bakterien aber die Konkurrenz mit den farblosen Kieselschalern ungemein erschwerte. So war ein Überwuchern der Diatomeen durch die Bakterien unmöglich gemacht. Bei den Peptonnährböden kamen dagegen die Bakterien zu sehr in Vorteil, womit die Unterdrückung der Diatomeenentwicklung besiegelt war; daß Natriumthiosulfatzusatz die Entwicklung hemmte, kann, wie noch später dargetan werden wird, die Folge einer Giftwirkung gewesen sein.

Das Geheimnis für die Reinzucht war also: Beschränkung der organischen Zutaten zum Substrate auf ein möglichst geringes Maß gradeso wie bei der Gewinnung⁴ der braunen Süß- und Meeresdiatomeen

¹ Richter Oswald, I., p. [78], 52.

² Celli A., Die Kultur der Amöben auf festem Substrate. C. f. B. u. P. 1896, I. Abt., 19. Bd., p. 536.

³ Vergl. Kapitel VI, p. 27 [683].

⁴ Richter Oswald, II., I. c. und I, I. c., p. [28], 2.

und nach demselben Gedankengang, der für Beijerinck bei seinen Grünalgenzuchten¹ und der Reinzucht seiner Kohlenstoffbakterie² maßgebend gewesen war. Die Vermutung, daß vielleicht die Schwefelwasserstoffatmosphäre, in der sich die Diatomeen befanden, bei der Reingewinnung eine unentbehrliche Rolle gespielt habe, hat sich trotz der Erfahrungen über das natürliche Vorkommen auf *Fucus*-Fragmenten auf Grund zahlreicher Versuche als irrig erwiesen.

Da nun während des Jahres 1906 ganz auffallende Gestaltsveränderungen mit dem Kulturobjekte vor sich gegangen waren, die eine neue Reinzucht wünschenswert erscheinen ließen, entschloß ich mich am 13. November 1906 zur Neureinzüchtung der Diatomee von *Fucus*-Fragmenten.

Dabei kam mir eine Erfahrung zustatten, die ich bei meinen Studien über die Bewegung³ und Schleimbildung⁴ der *Nitzschia putrida* gemacht hatte. Die Diatomeen haben nämlich die Eigentümlichkeit, sich, wenn sie in einem Tropfen Triester Meerwasser aufgeschwemmt und dann 1 Minute ruhig stehen gelassen werden, mit einem Schleimklümpchen auf dem Objektträger festzuheften. Man gibt also das Rohmaterial in einen Tropfen frischen Meerwassers auf den Objektträger, läßt 1 bis 2 Minuten ruhig stehen, gießt dann aus einem Schälchen frisches Meerwasser darüber oder bläst aus einer Spritzflasche mit Meerwasser einen Strahl auf den Objektträger und schwemmt auf diese Weise alle groben Verunreinigungen und, wie die Erfahrung lehrte, auch fast alle Bakterien vom Glase ab. Haften bleiben fast nur die Diatomeen. Auf diese Art kann man sich in sehr einfacher Weise »Reinpräparate« der farblosen Diatomeen herstellen. Man braucht jetzt nur den Objektträger mit der Oberseite nach unten in eine Petrischale auf erstarrtes Agar zu legen, das man in der Weise hergestellt hat, daß 18 g Agar nach halbtägiger Quellung ohne Wässerung in 1000 cm³ Triester Meerwasser gelöst wurden, oder über das Agar rasch wegzuziehen und kann dann in wenigen Tagen bereits die prächtigsten Reinkulturen auf einem solchen Agar erhalten. Die Geschichte der zweiten Reinkultur ist also bedeutend weniger verwickelt als die der ersten:

Am 13. November 1906 Gewinnung von Objektträger-»Reinpräparaten« nach der angeführten Methode; Übertragen der Objektträger auf erstarrtes Meerwasseragar. Am 15. November bereits die ersten mikroskopischen Kolonien. Am 20. November wurde die Diatomee nochmals auf einem Agarstückchen überimpft und am 22. November war die zweite Reinzucht gewonnen.⁵ Die Länge der isolierten Diatomee betrug 48·9 μ .

Von Verwendung von SH₂-Gas ist dabei gar keine Rede, womit seine Entbehrlichkeit auch für die Reinzucht erwiesen erscheint.

Bei der Reingewinnung kommt dem Beobachter die Diatomee noch in einer anderen Weise außerordentlich entgegen. Sie bewegt sich nämlich in diesen ersten Stadien der Kultur, solange sie noch die Nitzschigestalt⁶ hat — daß dies anders werden kann, wird später³ dargetan werden — außerordentlich lebhaft und zieht mit Hilfe ihres agarlösenden Fermentes⁷ von der Impfstelle aus weite Bogen im Substrate. Überträgt man z. B. ein kleines Stückchen Agar mit farblosen Diatomeen auf eine sterilisierte Platte von Meerwasseragar, so kann man fast mit Bestimmtheit erwarten, daß tags darauf wenigstens einige von

¹ Beijerinck M. W., Kulturversuche mit Zoochlorellen, Lichenogonidien und anderen niederen Algen. Bot. Zeitung 1890 p. 725 ff.

² Beijerinck M. W. und van Delden, Über eine farblose Bakterie, deren Kohlenstoffnahrung aus der atmosphärischen Luft herrührt. C. f. B. u. P., Abt. II, 1903, Bd. X, p. 33.

³ Vgl. Kapitel XIV, p. 76 [732].

⁴ Vgl. Kapitel XV, p. 78 [734].

⁵ Man kann nun die Kette der Abimpfungen und damit die Geschichte des Materials jeder einzelnen Impfung in der Weise darstellen, daß man das Datum jeder folgenden Impfung mit dem der früheren durch einen auf das folgende hingeworfenen Pfeil verbindet, so daß sich in unserem Falle die Geschichte der zweiten Reinzucht derart ausdrücken läßt: 13./XI. → 15./XI. → 20./XI. → 22./XI. 1906.

⁶ Vgl. Kapitel XIX, p. 91 [747].

⁷ Vgl. Kapitel X, b, p. 43 [699].

den Nitzschien 1 bis 2 *cm* von der Impfstelle vorgedrungen sind. Diese besonders beweglichen Individuen liegen in der Regel völlig allein. Man kann nun mit einer Platinöse oder einem Platinspatel das betreffende Agarstückchen mitsamt der darauf sitzenden *Nitzschia* ausschneiden und auf eine sterilisierte Agarscheibe übertragen und erhält auf diese Weise Einzell-Reinkulturen.

An diesem Beispiele zeigt sich wieder, wie man jeden Organismus erst genau studieren muß, um die geeignetste Reingewinnungsmethode angeben zu können, weil erst die lange Beschäftigung mit dessen Physiologie die Möglichkeit an die Hand gibt, ihn seiner Eigenart entsprechend zu behandeln. Dies sei besonders Methoden gegenüber hervorgehoben, die auch zu »Einzell«-Kulturen¹ führen und vorzüglich für die Reinzucht von Hefen sind, für die farblosen Diatomeen aber als absolut unverwendbar bezeichnet werden müssen. Wollte man, wie es Lindner² z. B. mit seinen sporenbildenden Hefen tut, die Diatomeen antrocknen lassen und dann aussuchen und übertragen, so hätte man sie eben schon getötet, ehe man sie geimpft hätte. Die Empfindlichkeit der farblosen Diatomee scheint es geradezu zu fordern, daß man sie auf Agarstücken überträgt, weil sich wiederholt herausgestellt hat, daß das bloße Impfen mit der Nadel zu keinem Ergebnisse geführt hat. Die haften gebliebenen Diatomeen dürften dabei durch das Überstreichen der Nadel und den wenn auch sehr geringen Druck so stark hergenommen worden sein, daß sie sich nicht mehr erholen konnten.

Nach dieser Methode wurde bei dem zweiten Reinzuchtversuch vom 13. November, am 16. November 1906 eine Einzell-Kultur³ hergestellt und damit die zweite Reinkultur, die ich besitze, gewonnen.

Das Vordringen bis zur Einzell-Kultur war deshalb so notwendig, weil die Fragen nach der Teilungsgeschwindigkeit und die nach der Variationsfähigkeit der Diatomee, Fragen, die sich bei der Beschäftigung mit der farblosen Kieselalge unwillkürlich aufdrängten und Antwort heischten, ohne sie unmöglich exakt zu beantworten waren.

Der Umstand endlich, warum ich bei der Methode der Reingewinnung etwas länger verweilte und ausdrücklich die beiden Wege der Reinzucht, die zum Ziele führten, beschrieb, hat seinen Grund in der Tatsache, daß ich Diatomeen beider Reinzuchten besitze, von denen die ersten bereits Veränderungen ihrer Gestalt durchgemacht hatten, die denen der zweiten Zucht vielfach erst bevorstanden und Hand in Hand damit die der ersten Zucht Kolonieförmigkeiten auf den verschiedenen Kulturmedien aufwiesen, die den anderen abgingen usf., so daß die betreffenden Diatomeen und ihr Verhalten nur dann richtig verstanden werden konnten, wenn man gleichzeitig ihre Herkunft aus der ersten oder zweiten Reinzucht berücksichtigte. Doch war es nicht nötig, eigene Ausdrücke dafür einzuführen, da die p. 7 [. .], Note 5 angegebene Bezeichnungsweise auch darüber völlig Aufschluß gibt, je nachdem die Datenreihe mit den Monaten März, April oder November 1906 beginnt. Derzeit, also bei Abfassung des Manuskriptes, haben sich übrigens auch schon bei den Individuen der zweiten Reinzucht die angedeuteten Veränderungen eingestellt.

Gemeinsam ist beiden Wegen zur Reingewinnung die Tendenz, mit möglichst geringen Mengen für Bakterien verwertbarer organischer Substanz zu arbeiten, um die Diatomeen den Bakterien gegenüber

¹ So sollen in der Folge Reinkulturen, die aus einer einzigen Zelle hervorgegangen sind, der Kürze halber genannt werden. Vgl. Lafar Fr., Spezielle Physiologie etc., I. c., p. 109.

² Lindner P., Berlin, Über einige neuere biologische Methoden im Dienste des Gärungsgewerbes. Jahresbericht d. Ver. der Vertreter der angew. Bot. Tagung zu Hamburg, p. 104. — Über andere Methoden der Einzellkultur, vergl. Küster E., Anleitung zur Kultur der Mikroorganismen 1907, Verlag bei Teubner, Leipzig, p. 55, und Richter Oswald, IV. Die Bedeutung der Reinkultur, 1907, Berlin, Verlag bei Gebr. Bornträger, p. 110.

³ Auch Benecke (I. c., p. 563) und Karsten (I. c., p. 428) gelang es ab und zu, eine einzige Diatomeenzelle im Hängetrophen zu fangen. Doch ist die eben beschriebene Methode von der der beiden Autoren etwas verschieden, wie wohl einleuchtet, wenn man bei Benecke liest:

»Es mußte dem Zufall überlassen bleiben, wie viele Nitzschien in eine Kultur hinein gerieten, nicht selten gelang es, ein einziges Individuum in einem Tropfen zu erhalten, abgesehen natürlich von den gleichzeitig vorhandenen Bakterien.«

in Vorteil zu bringen; gemeinsam ist beiden die Verwendung des Agar, dessen Widerstandsfähigkeit gegen Bakterienwirkung gerade in so schwierigen Fällen nicht hoch genug angeschlagen werden kann; verschieden sind sie nur dadurch, daß die zweite mit ungewässertem Agar arbeitet, dafür die Diatomeen von allem organischen Rohmaterial abspült, die erste aber den Mangel an gut assimilierbaren Stoffen im gewässerten Kochsalzmineralagar durch das Eintragen des stark verunreinigten Rohmaterials kompensiert. Die dadurch hervorgerufene Schwierigkeit einer starken Bakterienverunreinigung mag durch den verwendeten SH_2 wieder ausgeglichen worden sein.

Es ist nach dem Gesagten wohl gar keine Frage, daß man sich von jetzt ab nur der zweiten, sicherer und rascher zum Ziele führenden, auch bedeutend saubereren Methode bedienen wird.

Will man somit von Triester Algenfragmenten rasch farblose Diatomeen reinzuchten, so verfähre man wie folgt:

18 g Agar-Agar werden in 1 l Triester Meerwasser $\frac{1}{2}$ bis 1 Tag quellen gelassen und dann im selben Wasser gelöst, filtriert und in Eprovetten eingefüllt. Man gieße dann Agarplatten in Petrischalen und lege die nur mit Diatomeen versehenen Objektträger, von denen die Rede war, auf das Agar oder streife sie vorsichtig darauf ab. Nach 2 Tagen hat man die ersten Kolonien.

Es mag zum Schlusse dieses Kapitels nur noch hervorgehoben werden, daß bei den für die »Einzell«-Kultur so bedeutungsvollen weitausholenden Kriechbewegungen vielleicht die von Provazek¹ und Benecke² beobachtete positive Chemotaxis der Diatomeen in Betracht kommt, die eben bei dem relativ bedeutenden Mangel an gut nährender organischer Substanz in einem nach obiger Vorschrift bereiteten Agar besonders zum Ausdrucke kommen mag. Die Diatomeen mögen von dem durch ihre Tätigkeit ausgebrauchten Gebiete weg, aus ihrer gegenseitigen Konkurrenzsphäre fort in neue unausgenützte, also peripher gelegene Zonen kommen wollen und so dem Züchter die Zellreinzucht leicht machen.

Ist man einmal zur Reinzucht vorgedrungen, so kann man selbstverständlich mit reichlichem organischen Zusatze arbeiten — es erwiesen sich Pepton-, Dextrin- und Leuzinzusatz als außerordentlich vorteilhaft — und erhält dann prächtige, mit Diatomeen übersäte Kulturen. Es fragt sich nur, welches Substrat dafür am geeignetsten ist und die Antwort auf diese Frage setzt wieder die Kenntnis der Gesamtphysiologie der Diatomee voraus, auf die zunächst eingegangen werden soll.³

¹ Provazek S., *Synedra hyalina*, eine apochlorotische Bacillarie. Österr. bot. Zeitsch., 1900, L. Jg., Nr. 3, p. 69.

² Benecke W., l. c., p. 554.

³ Ich habe wiederholt bei meinem Reinzuchtmaterial vergebens versucht, die Diatomeen, insbesondere zur Zeit, wo sie noch beweglich waren, nach der Pfeffer'schen Methode in Kapillaren zu fangen, doch habe ich offenbar die richtige Konzentration der Kapillarflüssigkeit, welche infolge der mit dem Übertragen der Diatomeen in Triester Meerwasser-Pepton-Dextrin bedingten Verschiebung der Reizschwelle nach oben bedeutend hätte erhöht werden müssen, damals nicht angewendet. Im übrigen vergl. W. Pfeffer, Lokomotorische Richtungsbewegungen durch chemische Reize. Unters. aus d. Bot. Institut zu Tübingen. Leipzig. 1881—1885, p. 401.

II. Die Notwendigkeit des Natriums für die farblose Meeresdiatomee *Nitzschia putrida* Benecke.

Schon mit den reingezüchteten Süßwasserdiatomeen wurde eine größere Menge Versuche gemacht,¹ die ihre Anpassungsfähigkeit an höhere Kochsalzkonzentrationen überprüfen sollten und zu dem interessanten Ergebnisse führten, daß sie 1·5% ClNa noch ohne Schwierigkeit zu ertragen vermögen, während 2% Kochsalz als obere Grenze des Kochsalzzusatzes angesehen werden kann. Eine Rückimpfung auf Gelatine niederen Kochsalzgehaltes brachte stets prächtige Entwicklung hervor. Eine langsame Gewöhnung an den niederen ClNa-Gehalt ist dabei ebenso unnötig wie an den höheren, wenn von kochsalzfreiem auf kochsalzhaltigen Nährboden überimpft wird.

Auch mit speziesrein gezüchteten braunen Meeresdiatomeen¹ sind analoge Experimente gemacht worden, die ergaben, daß sie selbst auf einem Agar, das nur 1% Kochsalz enthielt, noch sehr schöne Entwicklung aufwiesen.

Die farblose *Nitzschia* war nun gleichzeitig die erste absolut rein gewonnene Meeresdiatomee, weshalb es nur natürlich war, daß gerade der Frage nach der Rolle des Kochsalzes in ihrer Ernährung eine größere Aufmerksamkeit gewidmet wurde.² Dabei war zunächst festzustellen, ob das Kochsalz notwendig ist, und wenn ja, war nachzusehen, ob es lediglich die Rolle eines osmotischen Faktors besitzt oder aber als Nährsubstanz betrachtet werden muß.

Es gelang bisher nicht, bei direkter Überimpfung der rein gezüchteten farblosen Diatomee auf kochsalzfreie Nährböden auch nur eine Spur von Entwicklung zu erzielen. Damit war die erste Hauptfrage beantwortet und es fragte sich nun, welche Rolle wohl das ClNa bei der Ernährung spiele.

Doch ehe ich auf die Versuche und ihre Ergebnisse genauer eingehe, seien die beiden Möglichkeiten von der Bedeutung des ClNa als osmotischer Faktor und als Nährstoff kurz diskutiert.

Was zunächst die zweite Möglichkeit anlangt, so ist bisher weder das Na noch das Cl je als unumgänglich notwendig erkannt worden. Zwar findet man in Anbetracht der Allgegenwart des ersten Stoffes das Na bei jeder Pflanzenanalyse vor, doch haben die Ernährungsversuche zweifellos seine Entbehrlichkeit für die höheren und bisher auch für die niederen Pflanzen dargetan.³ Es verhält sich übrigens den meisten Pflanzen gegenüber insofern völlig indifferent, als es bei Zusatz in nicht allzugroßer Menge das Kulturobjekt weder merklich fördert noch schädigt.⁴

Das Chlor hinwiederum scheint, gewissen Nährlösungen, so der von Sachs, als ClK zugesetzt, sehr geeignete Umsetzungen in der Flüssigkeit zur Folge zu haben, so daß es wiederholt zu

¹ Richter Oswald, I, I. c., p. [81 und 82] 55 und 56.

² Richter Oswald, V., Über die Notwendigkeit des Natriums für eine farblose Diatomee. Wiesner-Festschrift. Verlegt bei Carl Konegen, 2. September 1907, p. 167.

³ Vergl. Pfeffer W., Pflanzenphysiologie, 2. Aufl., I. Bd., Leipzig 1897. Verlag von W. Engelmann, p. 404, 408, 415, 425, 429, 434. Molisch H., Die Ernährung der Algen I. Separatabdruck der Sitzungsberichte der kais. Akad. d. Wiss. in Wien, Bd. CIV, Abt. I, Oktober 1895, p. 17 [799]. — Jost L., Vorlesungen über Pflanzenphysiologie, II. Aufl. Jena 1908, Verl. v. G. Fischer, p. 97.

⁴ Es soll hier nicht unerwähnt bleiben, daß gewisse Pflanzenkeimlinge, die in Töpfen gezogen, mit Kochsalzlösungen verschiedenen Prozentgehaltes begossen wurden, unter Umständen gegenüber den Kontrollkeimlingen auch eine Förderung im Längenwachstum aufweisen können, im allgemeinen übt das ClNa aber bei höheren Konzentrationen einen entschieden hemmenden Einfluß aus. — Wypiel M., Über den Einfluß einiger Chloride, besonders des Natriumchlorids auf das Wachstum der Pflanze. Separatabdruck aus dem XXII. Jahresberichte des niederösterreich. Landes-Realgymnasiums in Waidhofen a. d. Thaya, 1891, p. 26 und 44.

diesem Behufe empfohlen worden ist. Als notwendig im eigentlichen Sinne des Wortes ist auch das Cl meines Wissens niemals erkannt worden.¹

Ganz anders steht es um die erste Möglichkeit. Man hat sich daran gewöhnt, anzunehmen, daß alle Meerespflanzen Kochsalz als osmotischen Faktor brauchen. Eine Meeresperidinee, in Süßwasser gelegt, stirbt momentan. Die meisten Leuchtbakterien wachsen als halophile Organismen nicht, wenn man sie in kochsalzfreie Nährlösung überträgt, gedeihen aber prächtig, wenn man sie statt auf ClNa-, auf ClK-, KNO₃- u. s. f.-haltigen Nährböden kultiviert, die einem ClNa-Nährboden mit 3% ClNa isosmotisch sind.²

a) Versuche zur Ermittlung der Grenzkonzentrationen des ClNa, die von der *Nitzschia putrida* Benecke vertragen werden, und zur Ermittlung des Optimums für ihre Entwicklung.

Zur Ermittlung der unteren Grenzkonzentration des ClNa, bei der noch eine Entwicklung der farblosen Diatomee stattfindet, wurden zunächst einige Versuche durchgeführt, bei denen das Kochsalz in den Mengenverhältnissen 0·5, 1, 1·5, 2, 2·5 und 3% in Anwendung kam und zu der betreffenden Stammgelatine oder dem benutzten Stammagar zugesetzt wurde. Da von jedem Versuche 4 Strich-, 2 Stich-, 2 Schüttel-, 1 Platten- und eine Kölbchenkultur gemacht wurde, erscheint jeder Teilversuch aus zehn Einzelversuchen zusammengesetzt, so daß ein gleichartiges Ergebnis bei den Einzelversuchen gleicher Konzentration wohl den Anspruch auf Gültigkeit erheben darf.

Da es für bestimmte andere, später noch zu besprechende Versuche von großer Bedeutung war, mit möglicher Genauigkeit auch die Kochsalzmenge zu kennen, die gerade noch, und auch jene, die schon nicht mehr das Wachstum der Diatomee zuließ, wurde am 15. und 17. Mai 1908 der folgende Versuch in Gang gesetzt.

Ein Agar, das auf 1000 Teile destillierten Wassers 18 g gewässerten Agar-Agars enthielt und dem

0·2 g CaCl₂,
0·05 g MgSO₄,
0·2 g K₂HPO₄ und
eine Spur FeSO₄

zugesetzt worden waren, wurde in 3 Teile geteilt, von denen der erste 0·1% Leuzin, der zweite 0·2% KNO₃ und der dritte nach der Methode von Eijkmann und Hastings³ 1% Milch als Stickstoffquelle erhielt.

Jeder der Teilversuche bestand wieder aus neun Partien, die sich durch den Kochsalzgehalt von einander unterschieden; es waren vertreten: 0, 0·1, 0·2, 0·3, 0·4, 0·5, 1, 2, 3% ClNa. Einen raschen Überblick über die Versuchsanordnung dürfte man durch einen Blick auf die Tabelle I (VII. Versuch) erhalten. Jede der neun Partien bestand, abgesehen von den Kontrollagars ohne ClNa-Zusatz aus je zwei Ausgußplatten und je drei Eprovettenstrichkulturen, so daß also jeder Befund in der ClNa-Frage entsprechend der Dreiteilung des Versuches durch 3×5, also 15 Einzelexperimente bekräftigt war.

Die Impfung des gesamten Leuzin- und Milchversuches erfolgte am 15. Mai, die des KNO₃-Teilversuches am 17. Mai 1908 direkt von Triest. Meerw. P D A,⁴ mit Var. *longa* des Lichtversuches vom 9. Mai 1908 »gelbes Licht«.⁵

Um nun auch noch unter gleichzeitiger Bestätigung der bisher gewonnenen Resultate die obere Grenze für die Kochsalzgaben und damit auch ganz klar die optimale ClNa-Konzentration zu ermitteln, wurden die angeführten Experimente dahin abgeändert, daß das ClNa in den Mengenverhältnissen 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 und 10% zu der Kulturgelatine zugesetzt wurde (vergl. die Figuren 1 bis 3, Taf. I und II).

¹ Vergl. dazu die übertragene Anwendung dieses Wortes mit Bezug auf das Chlor bei Pfeffer W., Pflanzenphysiologie, I. c., I. Bd., p. 408. Nach Wypfel, I. c., p. 26, soll KCl in den von ihm verwendeten Konzentrationen das Längenwachstum immer ungünstig beeinflussen. — Derselbe, Weitere Versuche über den Einfluß der Chloride auf das Wachstum der Pflanze. Ebenda, XXIII. Jahrg., 1892. — Vergl. auch seine eingehenden Untersuchungen »Über den Einfluß einiger Chloride, Fluoride und Bromide auf Algen. Ebenda, XXIV. Jahrg., 1893.

² Molisch H., Leuchtende Pflanzen. Jena 1904, Verlag von G. Fischer, p. 89.

³ Vergl. Kapitel X, p. 41 [697].

⁴ Vergl. Kapitel VI, p. 27 [683].

⁵ Vergl. Kapitel XII, p. 50 [706].

1. Die tabellarischen Zusammenstellungen der Ergebnisse

dieser Versuche finden sich auf Tabelle I.

2. Zusammenfassung der Ergebnisse der Versuche über die Grenzkonzentrationen des ClNa und die optimalen Kochsalzdosen für die Zucht der *Nitzschia putrida* Benecke.

1. Kochsalzmangel im Nährsubstrate verhindert jede Entwicklung, desgleichen Gaben von 7 bis 10% ClNa.

2. Die erste zweifellos bei Leuzin als Stickstoffquelle beobachtete, oft recht reichliche Entwicklung wurde in den durchgeführten Versuchen bei 0·3% ClNa bemerkt. 0·1 und 0·2% ClNa ermöglichen bei Leuzin, Milchcasein oder KNO₃ als Stickstoffquelle nicht mehr das Wachstum der farblosen Diatomee. Diese Tatsache wird deshalb so sehr betont, weil sie die Basis für einen der späteren Versuche gebildet hat, der über die Notwendigkeit des Na als Nährelement und dessen partielle Vertretbarkeit durch andere Stoffe eine entsprechende Aufklärung geben sollte.¹ Es erscheint somit 0·3% ClNa nach den bisherigen Erfahrungen als die untere Grenze für die Entwicklungsfähigkeit der *Nitzschia putrida*.

3. Analog kann 6% ClNa als die obere Grenze für das Gedeihen der Diatomee angesehen werden. Damit sind Konzentrationen mit positivem Ergebnisse in Anwendung gebracht worden, wie sie A. Richter² und K. Techet² bei ihren Algenversuchen erwähnen.

4. Um 2 bis 3% ClNa liegt das Optimum für die Entwicklung der rein gezüchteten farblosen Diatomee. Bei den übrigen Konzentrationen bemerkt man von 0·3 gegen 2 bis 3% im großen und ganzen proportional zur stärkeren Kochsalzzugabe eine bessere, von da ab bei noch größeren Kochsalzmengen proportional zur höheren Konzentration eine geringere Entwicklung.

Die Tatsache, daß die *Nitzschia putrida* ohne Schwierigkeit auf Nährböden mit Kochsalzgaben von 0·3 bis 6% gezogen werden kann, beweist eine ungemein weitgehende Anpassungsfähigkeit der Diatomee an die verschiedensten Kochsalzkonzentrationen und läßt sie uns vom biologischen Standpunkte als für den »Kampf ums Dasein« außerordentlich gut ausgerüstet erscheinen.

Diese Widerstandsfähigkeit gegen Schwankungen im Kochsalzgehalte gewinnt insbesondere dadurch an Interesse, daß die Diatomee sie erträgt, ohne jede vorhergegangene Gewöhnung an allmähliche Veränderungen in den ClNa-Gaben nach oben oder unten. Sie verhält sich somit in dieser Beziehung analog wie die *Nitzschia Palea* Kütz., die *Navicula minuscula* Grun. und die speziesrein (d. h. noch mit Bakterien verunreinigt) gezüchteten braunen Meeresdiatomeen,³ übertrifft sie aber darin entschieden.

Da die braunen Meeresdiatomeen bisher im äußersten Falle auf 1% ClNa gezogen werden konnten, die farblose *Nitzschia putrida* aber auf 0·3% ClNa auch noch recht gut gedeiht, übertrifft sie sie auch weitaus bezüglich der unteren Grenzkonzentration für ihre Entwicklung.

5. Eine besondere Besprechung verdient noch der Versuch V der Tabelle I, bei dem bei der Impfung auf verschiedene Prozentsätze von Kochsalz drei verschiedene Varietäten⁴ der farblosen Diatomee, die Var. *longa*, *naviculaeformis* und *siliginea*, in Verwendung kamen, es ist das durch die Bezeichnungen v. l., v. n. und v. s. in der Tabelle I angedeutet. Man sieht zunächst, daß sich alle drei zu den gebotenen Kochsalzmengen völlig analog verhalten, daß aber die Var. *longa*, wie die dunkle Schummierung in den ihr

¹ Vergl. p. 14 [670].

² Vergl. Richter Oswald, I, 1. c., p. [79] 53, und die neueren Untersuchungen von Artari A., zitiert p. 16 [672]. Der Einfluß der Konzentrationen etc. II, 1. c., mit Reinkulturen von *Chlorella communis* und *Slichococcus bacillaris* erreichen natürlich, weil die Objekte Süßwasserorganismen sind, nicht 6%, p. 199 und 206 (5%, beziehungsweise 3% ClNa).

³ Richter Oswald, I, 1. c., p. [82] 56.

⁴ Vergl. das Kapitel XIX, p. 96 [752].

zugewiesenen Kolonnen andeutet, von allen drei Varietäten für solche Experimente die geeignetste ist.

6. Wiederholt wurden sehr auffallende Formveränderungen an den farblosen Diatomeen in Kulturen niederen Kochsalzgehaltes beobachtet, worauf noch in zwei späteren Kapiteln¹ zurückgekommen werden muß (vergl. Fig. 27, Taf. IV).

Dabei geht Hand in Hand mit der Gestaltsänderung auch eine Veränderung in der Wuchsform der Kolonie vor sich, die in der Photographie Fig. 1 der Taf. I, Fig. 2, Taf. II, unschwer erkannt werden kann.

b) Versuche über die Bedeutung des ClNa für die *Nitzschia putrida* Benecke.

1. Versuche, insbesondere mit verschiedenen Chloriden.

Um nun zu erfahren, welche Bedeutung das ClNa für die farblose *Nitzschia* besitzt, wurden zunächst eine Anzahl Versuche mit isosmotischen Mengen verschiedener Substanzen durchgeführt.

Zu einem Stammagar, dessen Zusammensetzung aus der Tabelle zu ersehen ist, wurde ClK, Cl₂Mg, Cl₂Ca, KNO₃, MgSO₄, Leuzin, Inulin und Traubenzucker zugefügt, in äquivalenten Mengen mit 3‰, bei zwei nächsten Versuchen mit 2 und 1‰ ClNa und mit dem Stammagar als Kontrolle geimpft.²

Jede Impfung war mit vier Strich- und zwei Stichkulturen in Eprovetten ausgeführt. Außerdem wurden stets je zwei Ausguß- und zwei Strichkulturplatten von jeder Art hergestellt, so daß das Ergebnis stets eigentlich zehn gleichartigen Einzelergebnissen entspricht.

Die verschiedenen Prozentsätze des ClNa in den drei aufeinanderfolgenden Versuchen wurden deshalb gewählt, weil dem Einwande begegnet werden mußte, daß vielleicht die absoluten Konzentrationen der isosmotischen Mengen gewisser Substanzen bei 3, beziehungsweise 2‰ ClNa als Ausgangspunkt zu hoch und dadurch giftig geworden sein konnten.

Da nun, wie gesagt, alle Substanzen in äquivalenten Mengen zugesetzt waren, der osmotische Druck also in fast allen Lösungen der gleiche war, hätte, wenn ClNa lediglich als osmotischer Faktor wirken würde, überall eine mehr oder minder gleichartige Entwicklung stattfinden müssen, wenn die hohe Konzentration allein nicht schon schädigend wirken kann.

Eine Entwicklung fand tatsächlich nicht statt, vielmehr zeigten sämtliche Versuche übereinstimmend nur dort Entwicklung, wo Kochsalz zugesetzt worden war, sonst nirgends (vergl. Tabelle II₁).

Damit ist zunächst ganz zweifellos erwiesen, daß das ClNa nicht so sehr als osmotischer Faktor wie vielmehr als Nährsubstanz in Frage kommt. Und damit ist sofort die Frage aufgerollt, welches von beiden, das ClNa zusammensetzenden Elementen von der farblosen *Nitzschia* benötigt wird.

Auch darüber bieten schon die angeführten Versuche einigen Aufschluß: In den Zugaben ClK, Cl₂Mg, Cl₂Ca und ClNa erscheint überall das Cl vertreten. Und doch hat Entwicklung nur im ClNa stattgefunden. Es konnte somit das Chlor nicht das Maßgebende für die Entwicklung gewesen sein.

Deshalb läßt sich aus den besprochenen Versuchen vorläufig schon der berechtigte Schluß ziehen:

Das Na des Kochsalzes scheint für die rein kultivierte farblose Meeresdiatomee notwendiges Nährelement zu sein.

¹ Vergl. das Kapitel III, p. 20 [676] und XIX, p. 101 [757].

² Dabei kam das CaCl₂ als wasserfreies Pulver, das MgCl₂ und MgSO₄ als kristallisiertes Salz in Verwendung. Da nun bei Verbindungen mit Kristallwasser wie MgCl₂ und MgSO₄ die Konzentration der Nährböden durch die notwendige Einbeziehung desselben in die Berechnung ins ungeheuerliche steigt, wurde in der Folge mit um so größerer Beruhigung, als diese Maßregel, wie die Versuche mit den verschiedenen Prozentsätzen zeigten, für den Effekt völlig belanglos war, von der Mitberechnung des Kristallwassers auch bei anderen Salzen wie Na₂SO₄ abgesehen. Es sei übrigens bemerkt, daß gerade in den vorliegenden Versuchen die verwendeten Substanzmengen isosmotisch waren.

Das ist ein sehr auffallendes und aller Erwartung zuwiderlaufendes Ergebnis, gegen dessen Gültigkeit ich mich lange sträubte. Wenn ich diesen Meinungswechsel erwähnt habe, so tat ich es hauptsächlich deshalb, weil ich glaube, daß seine Erwähnung mit Rücksicht auf die Zähigkeit, mit der man an einer eingewurzelten Anschauung festhält, geeignet schien, für die Richtigkeit der neuen Befunde zu sprechen.

Ein anscheinend widersprechender Versuch.

Zunächst schien der eben angeführten, allmählich sich zur Gewißheit kondensierenden Ansicht ein Versuch, der mit Gelatine durchgeführt worden war, einigermaßen zu widersprechen.

Eine Stammgelatine, deren Zusammensetzung aus der Tabelle II ersichtlich ist, wurde mit je 2% von ClNa, ClK, Cl₂Ca und Cl₂Mg versetzt. Jeder Versuch war mit je drei Strich- und drei Stichkulturen ausgeführt. Die Impfung erfolgte am 15. Dezember 1906. Am 3. Jänner 1907 hatte die Diatomee in 2% ClNa in allen sechs Eprouvetten bereits ihr Maximum erreicht, in ClK war keine, in Cl₂Ca in einer Eprouvette (Strichkulturen) eine sehr geringe, in MgCl₂ in zwei Eprouvetten spurenweise Entwicklung, in zweien die erste Andeutung eines Wachstums, in zweien aber recht reichliche Entwicklung zu bemerken.

Am 15. März hatte sich dann das Bild dahin geändert, daß noch in zwei weiteren CaCl₂ Eprouvetten-Entwicklung eingetreten war und in MgCl₂ ein recht reichliches Wachstum Platz gegriffen hatte (vergl. die Tabelle II₃).

Um aber doch einen Begriff zu geben, wie groß trotz alledem der Unterschied zwischen einer NaCl- und der die stärkste Entwicklung zeigenden MgCl₂-Eprouvette war, sind die beiden aufgenommen und auf Taf. II in Fig. 4 und 6 wiedergegeben worden.

Zu der Versuchsanstellung mag noch ergänzend bemerkt werden, daß in Anbetracht der Verwendung von Gelatine von der Benutzung Merck'scher Reagenzien für die Zusätze abgesehen wurde.

Da weitere neue Versuche mit gewässertem und dann erst zum Versuch verwendeten Agar, dem nur reinste Reagenzien zugesetzt worden waren, stets die Entwicklung bloß in ClNa, nie in den anderen Chloriden zeigten, konnte dieser Versuch zumal mit Rücksicht auf die Photographien Fig. 4 und 6 nicht als widersprechend angesehen werden, vielmehr mußte seine Erklärung am einfachsten wie folgt sein:

Zunächst konnte eine Verunreinigung des verwendeten MgCl₂ und CaCl₂ zur Erklärung herangezogen werden.

Es konnte aber auch zweitens angenommen werden, daß mit Rücksicht auf die Ergebnisse der unter a) besprochenen Versuche, die Gelatine wohl selbst nicht hinreichend NaCl enthielt, um allein die Entwicklung zu gestatten, daß die als Verunreinigung vorhandenen NaCl-Mengen aber ein Wachstum ermöglichen, wenn durch MgCl₂ oder CaCl₂ die osmotischen Verhältnisse geregelt werden.

Zur Überprüfung dieser Ansicht wurde am 13. und 14. Juni 1908 ein großer, aus zwei Teilkolonnen bestehender Versuch durchgeführt, dessen Gliederung gleichfalls in Tabelle II₄ eingesehen werden mag.

Das Stammagar hatte die folgende Zusammensetzung: 1000 T. H₂O, 18 g gewässertes Agar, 1 g Leuzin, 0.1 g K₂HPO₄, 0.05 g MgSO₄, 0.05 g CaCl₂, Spur K₂Si₂O₅, Spur FeSO₄.

Das Agar enthielt also von vornherein spurenweise (0.05 g ‰) Calciumchlorid. Die zwei Teilversuche waren nun in der Art voneinander unterschieden, daß der erste keinen ClNa-Zusatz zur Stammlösung bekam, der zweite aber mit 0.2% ClNa versehen wurde. Der zweite Teilversuch war also sozusagen eine künstliche Nachahmung der in einer Gelatine vermuteten Verhältnisse: eine Überprüfung des Ergebnisses über die Natriumernährung bei Verunreinigungen mit Chloriden verschiedener Art (hier CaCl₂ und NaCl).

Vergleicht man nun den Versuchseffekt in der Tabelle, so bemerkt man, daß man hier im Agar- wie dort im Gelatineversuch einen ganzen Monat warten mußte, bis man in den mit 2prozentigen Lösungen von KCl, MgCl₂, MgSO₄ versetzten Nährböden eine schwache Entwicklung bemerken konnte; doch war sie hier wie dort unzweifelhaft.

Dagegen konnte im Kontrollteilversuch außer in NaCl und NaNO₃, von dessen Bedeutung für die Ernährung sofort gesprochen werden wird, bei keinem einzigen der zweiprozentigen Salzzusätze eine Entwicklung beobachtet werden.

Durch dieses Experiment erscheint also die Erklärung des vorigen Versuches richtig und die Tatsache erwiesen zu sein, daß bei möglichst weitgehender Entfernung jedes Kochsalzgehaltes, eine Bedingung, die in einem gewässerten Agar realisiert erscheint, weder bei ClK -, Cl_2Ca -, Cl_2Mg - noch bei KNO_3 - und MgSO_4 -Zusatz eine Entwicklung der Diatomee eintritt, sondern daß diese Entwicklung — und da nur in schwacher Form — zu bemerken ist, wenn die Stammlösung bereits Spuren von ClNa enthält, die für sich allein eine Entwicklung nicht ermöglichen würden. Man wird also kaum irgehen, wenn man sagt, daß beim Vorhandensein von Spuren von Na und nur dann die erwähnten Substanzen die Fähigkeit erlangen, durch osmotische Wirkung vielleicht, die sonst nicht mehr assimilierbaren Na -Mengen assimilierbar zu machen.

Gerade dieser Versuch aber hat mit seinem Ausfall und der exakten Bestätigung der älteren Experimente in seinem ersten Teilversuch in überzeugender Weise dargetan, daß man Fragen, wie die über die Notwendigkeit des Natriums für Meeresorganismen, nur mit Hilfe geeigneter Vorkehrungsmaßregeln, hier des gewässerten Agars, in anderen Fällen mit Nährflüssigkeiten zu lösen vermag.

Von diesem Standpunkte aus sind auch die bisherigen Befunde über die Bedeutung des ClNa für Meeresorganismen einer neuerlichen Prüfung zu unterziehen. Denn immer da, wo Gelatine oder sonst ein relativ komplizierter Nährboden in Verwendung kam, wird der eben angedeutete Einwand gemacht werden können.

Zum Schlusse mag hervorgehoben werden, daß der Versuch, abgesehen von der Mahnung zur Vorsicht, in Ergänzung der unter a) besprochenen Versuche, gelehrt hat, daß die *Nitzschia putrida* unter Umständen auch bei weniger als 0.3% ClNa zu gedeihen vermag.

Im Anschluß daran sei darauf hingewiesen, daß der sechste Versuch der Tabelle II noch deshalb ein besonderes Interesse beansprucht, weil er mit drei Varietäten der *Nitzschia putrida* durchgeführt wurde, die sich den gebotenen Salzen gegenüber durchaus analog verhielten. In derselben Art gewinnt der Versuch II der Tabelle II eine besondere Bedeutung in unserer Frage, weil er mit Parallelimpfungen der am 7. April in Reinkultur erhaltenen, durch Monate in derselben Schale aufbewahrten großen Form und der durch bis zum 15. Juni besorgten vielfachen Überimpfungen erzielten kleinen Form durchgeführt worden ist. Dabei mag gleich hervorgehoben werden, wie lange die Diatomee ohne Überimpfung in einer Kultur lebenskräftig zu halten ist, wofür die prächtige Entwicklung der Kulturen 7./IV. → 9./VII.¹ ein sprechender Beleg sind.

2. Versuche mit verschiedenen Natriumsalzen.

Die früher geäußerte Anschauung von der Notwendigkeit des Natriums als Nährelement gewänne natürlich sehr an Wahrscheinlichkeit, wenn es glücken würde, auch mit anderen Natriumsalzen eine Entwicklung der Diatomee zu erzielen.

Ob dies der Fall ist, mögen die folgenden Versuche klar machen.

Der erste Versuch nach dieser Richtung wurde mit äquivalenten² Mengen von Natronsalpeter, Natriumazetat, Natriumammoniumphosphat, Natriumkarbonat, doppeltkohlensaurem Natron, Natriumoxalat, Natriumphosphat und Natriumsulfat, 3% ClNa als Vergleichsmenge gedacht, ein zweiter mit zweiprozentigen Lösungen von Natronsalpeter, Natriumazetat³, Natriumdisulfid, Natriumthiosulfat, Seignettsalz, Natriumsulfat, Natriumaluminat**, Natriumphosphat*, Natriumammoniumphosphat*, Natriumsulfid* Natriumoxalat**, Natriumbioxalat**, Natriumbikarbonat*, Natriumsalizilat und ClNa durchgeführt. Auch bei späteren einfacheren Versuchen mit ClNa , Na_2SO_4 , NaNO_3 wurden stets 2% der Substanzen zugesetzt. Der erste war ein Versuch mit Agar, der zweite einer mit Gelatine, die späteren alle Agarversuche. Der erste wurde mit je zehn, der zweite mit je sechs Einzelimpfungen für jede Zugabe durchgeführt (vergl. Tabelle II₂).

¹ Über diese Bezeichnungsart vergl. Kap. I, p. 7 [663], Note 5.

² Dabei wurde bei den verwendeten Verbindungen das Kristallwasser nicht mit in die Berechnung einbezogen.

³ Vgl. die Erklärung dieser Zeichen auf p. 16 [672].

Das Ergebnis fiel übereinstimmend dahin aus, daß nur bei ClNa- und NaNO₃-Zusatz Entwicklung stattfand, sonst nirgends. Dabei schien das ClNa eine bessere Entwicklung der farblosen Diatomee zu bedingen als das NaNO₃, indem in diesem noch eine mittlere Entwicklung zu sehen war, während in jenem die *Nitzschia putrida* bereits den Höhepunkt ihres Wachstums und ihrer Vermehrung erreicht hatte.

Gegen diesen Befund lassen sich nun noch einige nicht unwesentliche Einwände machen, deren Widerlegung erst die Giltigkeit des ausgesprochenen Satzes erweisen wird.

1. Konnte beim ersten Versuch wenigstens auf die zu hohe Konzentration der verwendeten Na-Salze hingewiesen werden, um das Unterbleiben jedweden Wachstums auf ihnen verständlich zu machen.

Dem gegenüber kann betont werden, daß im zweiten und in allen späteren Versuchen der betreffenden, gewiß rügbaren Fehlerquelle durch Verwendung lauter zweiprozentiger Lösungen vorgebeugt wurde.

2. Ist es höchst auffallend, daß eine ganze Anzahl anscheinend sehr passender Na-Quellen keine Entwicklung ermöglichen. Man betrachte in der Tabelle die Kolonnen des Natriumphosphats,¹ Natriumkarbonats usf.

Die Erklärung dieses Unterbleibens jedweder Entwicklung liegt bei den angeführten Beispielen im Alkali- oder Säuregehalt der betreffenden Verbindungen, beziehungsweise in der Reaktion der Nährsubstanz nach längerem Kochen mit den bezüglichen Zusätzen. Um diesen Fehler ersichtlich zu machen, wurden in der Tabelle unter die Bezeichnungen der Substanzen auch die auf den starken Alkali- oder Säuregehalt bezüglichen Bemerkungen, und früher schon im Texte durch ein oder zwei Sternchen angedeutet (* = sauer, ** = alkalisch), eingetragen.

Wenn man nun bedenkt, daß im Einklang mit den Erfahrungen an braunen Süßwasserdiatomeen² nur schwache Alkaleszenz das Gedeihen der *Nitzschia putrida* ermöglicht,³ so ist die Unmöglichkeit, nach Zusatz der bezeichneten Substanzen zum Nähragar, Wachstum zu erhalten, unschwer verständlich.

3. Nun reagiert aber Na₂SO₄ weder alkalisch noch sauer und doch findet in ihm keine Entwicklung statt.⁴

Auch dafür läßt sich eine plausible Erklärung finden. Bekanntlich sind nach den modernen Anschauungen der Chemie die Verbindungen, einmal aufgelöst, nicht mehr als solche, sondern ionisiert in der Lösung vorhanden. Wir sehen sofort, daß es bei dem relativ hohen Prozentsatz von 2% Na₂SO₄ zu einer relativ großen Anhäufung von SO₄-Ionen kommen muß, die giftig wirken kann. Sehr passend lassen sich gerade hier die Erfahrungen Benecke's⁵ über die Wirkung von Na₂SO₄-Lösungen auf Spirogyren zum Vergleich heranziehen:

»Von den Na-Salzlösungen zeigte aber nur die Na₂SO₄-Lösung geschädigte Zellen, in der NaCl-Lösung waren alle Zellen so gesund, als in den mit CaSO₄ angesetzten Parallellösungen. Nach den in der Literatur vorliegenden Angaben wäre es falsch, daraus

¹ Es ist mir sehr angenehm, hier auf ähnliche Erfahrungen mit Dikaliumhydrophosphat hinweisen zu können, Artari A. »Der Einfluß der Konzentrationen der Nährlösungen auf die Entwicklung einiger grüner Algen. II., Pringsh., Jahrb. f. wiss. Bot., 1906, XLIII, H. 3, p. 199. »Die starke Alkaleszenz hindert also die Entwicklung ohne weiteres, die Hemmung durch die osmotische Wirkung ist jedoch gleichfalls bedeutend.«

² Richter Oswald, J, l. c., p. [75] 49.

³ Siehe Kapitel V, p. 25 [681].

⁴ Ein Stoff wie Seignettsalz, der beim Gelatineversuch in Anwendung kam, hätte, was seine Neutralität anlangt, theoretisch auch eine Entwicklung ermöglichen können, doch zeigte sich, daß 2% des Stoffes — die angewendete Konzentration — schon so hoch war, daß einen Tag nach der Impfung sowohl Stich wie Strich geradezu mit Unmassen Kristallen erfüllt waren. Man könnte danach eine Seignettsalzelatine geradezu zur Demonstration des Einflusses mechanischer Reize auf die Kristallisation empfehlen.

⁵ Benecke W., Über die Giftwirkung verschiedener Salze auf Spirogyra und ihre Entgiftung durch Calciumsalze. Ber. der deutschen bot. Ges., 1907, 25. Jahrg., H. 6, p. 329.

auf eine vollkommene Unschädlichkeit des Kochsalzes zu schließen, nur soviel kann gesagt werden, daß Kochsalz weniger schädlich als Natriumsulfat, d. h. das Ion Cl weniger schädlich als das Ion SO_4 ist.¹

4. Daß endlich bei den verwendeten Giften wie Natriumdisulfit usf. keine Entwicklung stattfand, kann nicht wundernehmen.

Sonach bleibt von allen in Anwendung gebrachten Substanzen auch theoretisch nur mehr der Natronsalpeter als die dem NaCl in osmotischer und ernährungsphysiologischer Beziehung und in Hinsicht auf Reaktion nächststehende Verbindung übrig, auf der man eine Entwicklung und Vermehrung der *Nitzschia putrida* erwarten könnte. Ein Blick auf Tabelle II lehrt, daß tatsächlich im Natronsalpeter, aber auch nur hier, die Diatomeenentwicklung zu verzeichnen war. Das ist gleichzeitig der erste Fall, wo es gelang, Meeresdiatomeen kochsalzfrei zu ziehen. Es braucht wohl kaum eigens hervorgehoben zu werden, daß auch der Ausfall dieser Versuche beweist, daß nicht das Chlor, sondern das Natrium im Kochsalze für die Ernährung der kultivierten Meeresorganismen von Bedeutung ist.

Greifen wir nun nochmals auf die früher mitgeteilten Erfahrungen über die direkte Anpassung an verschiedene Kochsalzgehalte der Nährmedien zurück, so finden wir erklärlich:

1. Daß die Entwicklung auf ClNa-freiem, nicht NaNO_3 -haltigem Agar unterbleibt.
2. Daß bei niederem Kochsalzgehalt die Entwicklung mangelhaft erscheint.

Es wird eben entsprechend dem niederen ClNa- auch der Natriumgehalt herabgesetzt und da nun das Na notwendig ist, wird sein Fehlen oder sein geringes Vorhandensein auch das Wachstum entsprechend beeinflussen.

3. Warum bei höherem Prozentgehalt die Entwicklung unterbleibt; denn proportional zur Kochsalzmenge wird die Natriumquantität vergrößert. Und es ist ja bekannt, daß jeder Nährstoff in zu großen Mengen schädlich wirkt.

4. Warum die Diatomee schon bei 0·3% ClNa zu gedeihen vermag. Wäre das Kochsalz nur osmotischer Faktor, so ließe sich diese Erscheinung unmöglich verstehen. Wenn aber das Na des Kochsalzes ein notwendiges Nährelement ist, so ist die Erklärung leicht: 0·3% ClNa enthält eben schon soviel Natrium, als zur Entwicklung nötig ist. Für die Anwendung von Strichkulturen mit je 5 cm^3 Agar wurde die somit zur Diatomeenentwicklung notwendige Na-Menge mit 0·0097 g berechnet.

Auch auf die Diatomeengestalt und dadurch indirekt auf die Kolonieforn hat das Na oder besser ein relativ geringer Natriumzusatz einen Einfluß, doch davon später.¹ Zweck dieses Kapitels war nur, zu zeigen:

Daß es heute für einen Meeresorganismus, und zwar für eine farblose Diatomee, die *Nitzschia putrida*, zweifellos feststeht, daß sie das Natrium als notwendiges Nährelement bedarf.²

¹ Vgl. das Kapitel XIX, p. 101, und Kapitel XX, p. 106.

² Vgl. das Kochsalzbedürfnis der Pflanzenfresser: Bunge G., Lehrbuch der physiologischen und pathologischen Chemie. Leipzig, Verl. v. F. C. W. Vogel, 1894, p. 107.

Es sei auch auf die Arbeit von Osterhout W.J.V., Weitere Untersuchungen über die Übereinstimmung der Salzwirkungen bei Tieren und Pflanzen, Jahrb. f. w. Bot. 1908, Bd. 46, p. 121—136, verwiesen, die leider nicht mehr eingehender gewürdigt werden konnte.

III. Die organische Ernährung der *Nitzschia putrida* Benecke.

Die Untersuchungen über die braunen Süßwasserdiatomeen¹ hatten, wie ja auch zu erwarten war, ergeben, daß die mit Chlorophyll² begabten Organismen mit rein anorganischer Nahrung im Lichte ihr Auslangen finden, daß sie aber doch durch Darbietung stickstoffhaltiger und stickstofffreier organischer Substanz im Lichte nicht unbeträchtlich gefördert wurden; im Dunkeln wuchsen sie aber leider weder bei anorganischer noch bei organischer Ernährung, so daß gerade die interessantesten Versuche über die Assimilierbarkeit organischer Substanz bei Lichtausschluß entfallen mußten. Nun war in der *Nitzschia putrida* eine Diatomee rein gezüchtet, die durch ihre Farblosigkeit auf eine saprophytische Lebensweise angewiesen schien, so daß Experimente, die über ihr Verhalten gegen organische Substanzen Aufschluß geben sollten, einigen Erfolg versprachen.

Benecke³ hat mit seinen Rohkulturen zuerst Versuche über die saprophytische Lebensweise der farblosen Nitzschien gemacht. Er teilte zu diesem Zwecke eine Schlickprobe in möglichst gleiche Teile und gab sie in Gefäße mit Meerwasser, von denen das eine noch eine große Menge toter Schlangensterne als organische Nährquelle enthielt. Bei der Zucht im Lichte überholten an Zahl die farblosen bald die braunen Formen in dem Schlangensternglase, wodurch ihre größere Anpassung an organische Zutaten wahrscheinlich gemacht schien. Noch klarer wurde die Bedeutung der organischen Ernährung für die betreffenden Nitzschien, als Benecke die Schlangensternekultur in zwei möglichst identische Portionen teilte und die eine am Fenster, die andere im Dunkeln weiter kultivierte. Es zeigte sich dann, daß durch das Überwuchern grüner Algen die farblosen Diatomeen im Lichte unterdrückt wurden, im Dunkeln aber, weil der Konkurrenz mit ihren braunen Verwandten enthoben, zu einer ausgiebigen Entwicklung gelangten.

Es war durch diese Experimente Benecke's ohne Zweifel erwiesen, daß mit Rücksicht auf unsere Kenntnisse der Physiologie anderer farbloser Organismen auch die farblosen Nitzschien reichlich organische Substanzen für ihr normales Gedeihen benötigen. Eine wesentliche Stütze erhielten diese Befunde auch durch die Experimente von Karsten,⁴ und jedenfalls sprach, wenn auch dieser Schluß nicht gerade zwingend ist, die von Provazek⁵ und Benecke⁶ festgestellte Chemotaxis nach organischen Verbindungen sehr für die Notwendigkeit dieser Stoffe für die Ernährung.

Eine präzise Antwort vor allem auf die Fragen nach der Natur der assimilierbaren, der besonders günstigen und der minder geeigneten organischen Substanzen konnte aber nur mit Hilfe der Reinkultur gegeben werden. Wie wahr der eben ausgesprochene Satz ist, mögen zwei Stellen aus Benecke's Arbeit bekräftigen:

»Es sei noch mit einem Worte darauf hingewiesen, daß auch einzelne Versuche über den Nährwert organischer Stoffe (Harnstoff, Albumose), doch nur mit dem Erfolg angestellt wurden, daß die Diatomeen der Bakterienkonkurrenz erlagen.«⁷

»Die mit Ammonphosphat versetzten Kulturen zeigten einen kleinen Vorsprung vor den andern, ob das aber eine direkte Wirkung dieses Nährsalzes war, bleibt mehr als zweifelhaft bei der großen Zahl anderer Organismen, die sich mit in der Kultur befanden.«⁸

¹ Richter Oswald, I, l. c., p. 30 [56] u. f.

² Molisch H., Über den braunen Farbstoff der Phaeophyceen und Diatomeen. Bot. Zeitg., 1905, H. 7/8, p. 139.

³ Benecke W., I, l. c., p. 561; vgl. auch p. 537 und 558.

⁴ Karsten G. I, l. c., p. 426.

⁵ Provazek S., l. c., p. 69.

⁶ Benecke W., I, l. c., p. 554.

⁷ Benecke W., I, l. c., p. 565.

⁸ Benecke W., I, l. c., p. 564.

Überprüft wurden von mir an Stickstoffsubstanzen: Asparagin, Leuzin, Ammoniumchlorid, Ammoniumsulfat, Ammoniumnitrat, Ammoniumtartrat, Kaliumnitrat, Pepton, Albumin, und an stickstofffreien organischen Stoffen: Traubenzucker, Rohrzucker, Milchzucker, Glycerin, Dulzit, Mannit, Lävulose, Erythrit, Milchzucker, Dextrin, Gelose und Inulin.

In einem großen, mit möglichster Exaktheit hergestellten Versuch mit Nährlösungen kamen die eben aufgezählten Stoffe, mit Ausnahme des Milchzuckers, in Verwendung, wobei darauf Bedacht genommen wurde, daß stets N- und C-hältige Verbindungen als gemeinsame Quellen für beide Stoffe benutzt wurden; bei anorganischen Stickstoffverbindungen wurde Inulin als Kohlenstoff- und bei stickstofffreien Kohlenstoffverbindungen Kaliumnitrat als Stickstoffquelle verwendet.

Das Ergebnis meiner Untersuchungen in dieser Beziehung war folgendes:

Anorganische und organische Stickstoff- und stickstofffreie organische Verbindungen ermöglichen im allgemeinen die Entwicklung der rein kultivierten *Nitzschia putrida* Benecke.

Die Entwicklung wird nur unterdrückt von Ammoniumtartrat, das bekanntlich auch die braunen Süßwasserdiatomeen entweder nicht hatte aufkommen lassen oder das sie wenigstens sehr ungünstig beeinflußt hat.

Im übrigen gaben die anorganischen Stickstoffquellen mit Inulinzusatz und die C- und N-Quellen prächtige Kolonien und üppiges Wachstum. Eine optimale Entwicklung ließ sich bei den N-freien C-Quellen im Inulin beobachten, dem sofort Mannit und Erythrit anzureihen wären. Dann würde Traubenzucker und Dextrin anzuführen sein.

Von C- und N-Quellen erwies sich Leuzin am vorteilhaftesten, danach zweifellos Pepton und dann Asparagin.

Es ist nun interessant, festzustellen, daß die genannten Stoffe im großen und ganzen die gleichen sind wie die, welche der *Nitzschia Palea* Kütz. und der *Navicula minuscula* Grun. so außerordentlich förderlich waren.¹

Leider hatte der Teil des beschriebenen exakten Versuches, soweit er Kaliumnitrat als Zusatz enthielt, einen bedeutenden Nachteil aufzuweisen, dem wohl schwer bei Neuanstellung des Versuches wird begegnet werden können: lästige Niederschläge nämlich die wegen ihrer weißen Farbe die farblosen Kolonien der Diatomeen nicht gut erkennen lassen.

Es mag noch erwähnt sein, daß wiederholt bei Agarkulturen Traubenzucker, Milchzucker und andere organische Stoffe allein und in passender Kombination mit Pepton die Entwicklung der *Nitzschia putrida* außerordentlich förderten. Die sich daraus ergebenden Rezepte für die Herstellung geeigneter Nährböden mögen im Kapitel VI, p. 27 [683], nachgesehen werden. Auch Milch, suspendiert in Agar, scheint ein recht vorteilhaftes Nährsubstrat zu sein,² dagegen erweist sich das käufliche Kasein als Gift.³

Einen sprechenden Beleg für den großen Unterschied, den es für die *Nitzschia putrida* ausmacht, ob sie mit KNO₃, Milch oder Leuzin als Stickstoff-, Agar, Milch oder Leuzin als C-Quelle ernährt wird, gibt noch der in Tabelle I als siebenter eingetragene Versuch. Der Vergleich der graphischen Wiedergabe der untereinander dargestellten Teilversuche erübrigt alle weiteren Erörterungen.

Hierher gehört auch die Bemerkung, daß die *Nitzschia putrida* selbst in Gelatine gedeiht, die keinen anderen Zusatz als 2 bis 3% ClNa⁴ besitzt.

¹ Richter Oswald, I, I. c., p. 32 [58], 43 [69], 45 [71].

² Siehe Kapitel VI, p. 29 [685] und X, p. 39 [695].

³ Vgl. die Erfahrungen von Lidforss B. (Über Chemotropismus der Pollenschläuche. Ber. d. deutschen bot. Ges., 1899, Bd. XVII, p. 240) über die Schädlichkeit der käuflichen Eiweißpräparate für Pollenschläuche.

⁴ Siehe Kapitel VI, p. 29 [685].

Betont braucht nur noch zu werden, daß in der Stammlösung des oben erwähnten exakten Versuches keine Entwicklung zu sehen war, womit der Beweis erbracht ist, daß die farblose Diatomee weder mit dem freien Stickstoff noch mit dem CO₂ der reinen oder dem CO der verunreinigten Luft¹ irgend etwas selbständig anzufangen weiß.

Diese Tatsache wird deshalb so sehr hervorgehoben, weil sich in der jüngsten Zeit die für den Züchter eines Saprophyten, der doch die *Nitzschia putrida* nach dem Gesagten zweifellos ist,² höchst überraschende Beobachtung wiederholt machen ließ, daß unsere Diatomee auf einem Mineralsalzagar mit ClNa-Zusatz ohne jede weitere organische Zutat ganz prächtig im Dunkeln gedieh, wenn sie in der gewohnten Weise auf einem kleinen Stückchen Triester Meerwasser-Pepton-Dextrinagar überimpft wurde.

Dieses Verhalten wird sofort verständlich, wenn wir an den früher p. 19 [675] besprochenen Versuch denken, in dem auch reinste Gelose in Anwendung kam; die Diatomeen assimilieren eben das Agar-Agar wie andere Kohlenstoffquellen. Eine derartige Annahme erscheint um so weniger befremdlich, als in der Folge³ auch der Beweis vom Vorhandensein eines agarlösenden Fermentes erbracht wird und da ja auch gewisse Bakterien bekannt geworden sind, die sich mit Agar als Kohlenstoffquelle zufrieden geben.⁴

Selbstverständlich ist es auch noch denkbar, daß die Spuren Pepton und Dextrin, die mit der Impfmasse auf die Schale kommen, für die Bildung der Tausende von Generationen ausreichen; doch scheint mir eine solche Annahme schon etwas weit hergeholt.

Die *Nitzschia putrida* gedeiht also auf ClNaM S A.⁵ aber im Verhältnis zu Kulturen mit anderen Kohlenstoff- und Stickstoffquellen doch mangelhaft. Werden nun gleichzeitig auch noch die Kochsalzgaben herabgesetzt, so geht unter der Voraussetzung, daß der N immer noch als Kaliumnitrat geboten wird, eine auffallende Formveränderung mit den Diatomeen vor sich, es kommt zur

Bildung der Var. *gomphonemiformis*⁶ und Plasmodienbildung⁶ infolge mangelhafter Ernährung.

Ich muß es späteren Ausführungen überlassen, die Erklärung für die eben verwendeten Namen zu geben, hier sei nur soviel vorweg genommen, daß die farblose Diatomee wie kaum ein anderer Organismus die Fähigkeit besitzt, ihre Gestalt zu ändern und durch Variationsformen auf äußere Einflüsse zu reagieren.

Sehr instruktiv war in dieser Beziehung ein Versuch, der am 15. Mai geimpft und dessen Versuchsanstellung im Kapitel II, p. 11 [667], Tabelle I, VII. Versuch genauer auseinander gesetzt wurde.

Es zeigte sich, daß in allen jenen Kulturen, in denen der N und C als Leuzin geboten wurde, entsprechend dem verschiedenen ClNa-Gehalte eine verschiedene Diatomeenentwicklung zu bemerken war, ohne daß man dabei bei der mikroskopischen Untersuchung eine ins Auge springende Formveränderung der geimpften Var. *longa*⁶ bemerken konnte, und zwar auch nach Wochen nicht.

¹ Beijerinck M. W. und van Delden, Über eine farblose Bakterie, deren Kohlenstoffnahrung aus der atmosphärischen Luft herrührt. C. f. B. u. P., Abt. II, 1903, Bd. X, p. 33. — Kaserer H., Die Oxydation des Wasserstoffes durch Mikroorganismen. Ebenda, XVI. Bd., 1906, Nr. 22, 23. — Richter Oswald, Die Bedeutung der Reinkultur. Berlin 1907, Gebr. Bornträger, p. 21 u. 11.

² Vgl. auch Benecke W., I, I. c., p. 568, und Karsten G., I, I. c., p. 427.

³ Siehe Kapitel X, p. 43 [699].

⁴ Gran H. H., Studien über Meeresbakterien, II. Über die Hydrolyse des Agar-Agar durch ein neues Enzym, die Gelose (Bergens Museums Aarbog 1902, Nr. 2). Ref. Bot. Zentralblatt 1902, Bd. 90, p. 264 (*Bacillus gelaticus* Gran).

⁵ Siehe Kapitel VI, p. 29 [685].

⁶ Siehe Kapitel XIX, p. 96 und 97 [752 und 753].

Nahm man aber aus den Kulturen des Nitrattteilversuches, der den Diatomeen den N somit als Nitrat, den C als Agar bot, und zwar aus jenen Eproutetten, beziehungsweise Schalen, in denen der ClNa-Gehalt auf 0·5, 1 und 2% herabgesetzt war, so bemerkte man schon nach 3 bis 4 Tagen nichts als Individuen der Var. *gomphoueniformis*¹ und nach 10 Tagen in allen untersuchten Kulturen massenhaft Plasmodien. Das Optimum für diese Erscheinung liegt bei 1 und 2% ClNa, auch 3% steht den genannten kaum nach. Da Plasmodien nur bei Oberflächenkulturen zu sehen sind, also anscheinend Sauerstoff für ihre Bildung brauchen, in 0·4 und 0·3% aber fast nur submerse Kolonien zu sehen waren, war bei diesen Prozentsätzen auch das Auftreten der Plasmodien unterblieben. Unter den oben angeführten Bedingungen gehen ganze Kolonien in die gewissen schleimig aussehenden Plasmamassen über, so daß man wiederholt Bilder bekam, wie sie in Fig. 24 der Taf. IV dargestellt sind.

Minder ausgiebig, aber immer noch sehr schön, jedenfalls aber ungemein zahlreich, wenn auch oft klein, sind die Plasmodien, die in Impfstrichen auf 2% ClNa M S A. + Milch auftreten. Bei einem am 7. April begonnenen und am 31. Mai endgültig abgeschlossenen Versuch² waren zum Beispiel in allen Schalen mit dem Milchagar massenhaft Plasmodien zu bemerken, während in einem Kontrollagar (Triester Meerwasser P D.) mit Milch und ohne Milch aber auch nicht ein Fall von Plasmodienbildung zu sehen war.

Aus diesen Ausführungen ergibt sich, daß es der Experimentator derzeit in der Hand hat die Zusammensetzung des Nährsubstrates durch Variation der Na-, Kohlenstoff- und Stickstoffquelle so zu wählen, daß die kultivierte farblose Diatomee *Nitzschia putrida* gezwungen wird, ihre normale Gestalt völlig aufzugeben und sich in eine ihr kaum noch entfernt ähnliche Gestalt zu verwandeln.

¹ Siehe Kapitel XX, p. 106 [762].

² > > X, p. 39 [695].

IV. Die bisherigen Erfahrungen über die Kieselsäureernährung der farblosen Diatomee *Nitzschia putrida* Benecke.

Bei den braunen Süßwasserdiatomeen¹ hatte es sich herausgestellt, daß sie SiO_2 für ihre normale Entwicklung benötigen.² Es lag daher nahe, nachzusehen, inwieweit sich dieses Ergebnis auch auf die farblose Diatomee würde ausdehnen lassen. Wie erinnerlich, wurden, um eine Lösung des SiO_2 aus den Glasgefäßwänden zu verhindern, die Kulturkölbchen nach der Methode von Molisch mit Paraffin ausgekleidet und nach dem Abkühlen mit der kalten Nährlösung beschickt. Eine neuerliche Sterilisation konnte nicht vorgenommen werden, weil sonst das Paraffin von den Wänden abgeschmolzen wäre. Dieses Unterlassen der Sterilisation hatte bei den braunen Kieselschalern wegen der völlig anorganischen Zusammensetzung der Nährlösung weiter nicht viel auf sich. Zufällig bei der Prozedur des Einfüllens der Kölbchen allenfalls mit in die Nährlösung hereingefallene Pilzsporen und Bakterien kamen naturgemäß beim Auskeimen in keine gefährliche Konkurrenz mit den sich im Lichte rasch entwickelnden Diatomeen. Dadurch wurde damals die Beantwortung der Frage nach dem SiO_2 -Bedürfnis der braunen Süßwasserdiatomeen überhaupt möglich.

Anders hier. Die verwendete Nährlösung muß organischer Natur sein, damit ist aber bei der durch die Paraffinauskleidung geforderten Unterlassung der Sterilisation der Nährlösung der Überwucherung der farblosen Diatomeen durch auskeimende Pilze und rapid sich teilende Bakterien freier Lauf gelassen. Dazu kommt, daß die Diatomeen eben farblos sind, die Paraffinauskleidung aber weiß ist, so daß man unter diesen Umständen von den auftretenden Kolonien rein gar nichts sieht. Es ist daher nur zu begreiflich, daß die ersten Versuche über die Si-Ernährung der farblosen Diatomee überhaupt nichts gelehrt haben.

Etwas mehr Erfolg schienen nun Experimente zu versprechen, die ich im Juni 1907 in Gang gesetzt hatte und zu deren Herrichtung direkt Benecke's³ Arbeit über die mineralische Nahrung der Bakterien die nächste Veranlassung war.

Wie bekannt, reichte Benecke bei seinen Versuchen über die Bedeutung des Ca, K, Na NH_4 und anderer Stoffe für die Ernährung des *Bacillus fluorescens* und *pyocyaneus* im großen und ganzen mit den von der Firma Schott gelieferten Kölbchen aus schwer löslichem Glase aus. Es war daher die Vermutung, daß mit diesen Kölbchen auch in der Kieselsäurefrage unserer Diatomee eine Entscheidung gebracht werden könnte, nicht von der Hand zu weisen. Und so machte ich mich denn an die Arbeit, obwohl ich mir auch sehr klar darüber war, daß es ungleich heikler sein mußte, mit den vielleicht schon für ernährungsphysiologische Fragen ausreichenden Spuren von SiO_2 als denen des Ca, K und Na mit unparaffinierten Kölbchen als Fehlerquelle zu operieren.

Der erste derartige Versuch wurde am 3. Juni 1907 durchgeführt.

Die verwendete Nährlösung hatte die folgende Zusammensetzung:

1000 T.	dest. Wasser,
1 g	Leuzin purum Merck,
0·2 g	K_2HPO_4 puriss. Merck,

¹ Richter Oswald; I., l. c., p. 6 [32].

² Über die biologische Verwertung dieses Befundes für das Planktonstudium vgl. bei Karsten G. »Das indische Phytoplankton«. Allgemeiner Teil. Abdruck aus Wiss. Ergebn. d. deutschen Tiefsee-Expedition auf dem Dampfer »Valdivia« 1898—1899; Verl. v. G. Fischer, Jena 1907, p. 487.

³ Benecke W., Untersuchungen über den Bedarf der Bakterien an Mineralstoffen. Bot. Zeitg. 1907, H. 1, p. 1.

0·2 g Ca(NO₃)₂ puriss. Merck,
 0·05 g MgSO₄ puriss. Merck,
 Spur FeSO₄.¹

Zu der Hälfte der Stammlösung wurde für die Kontrollkölbchen soviel K₂Si₂O₅ zugesetzt, als an einem trockenem Glasstäbchen beim Eintauchen in das Fläschchen des hygroskopischen Salzes hängen bleibt.

Die Herstellung der Stammlösung erfolgte in einem 1 l-Erlenmeyerkolben mit Paraffin-auskleidung, das Eingießen mit paraffiniertem Meßglase, so daß tatsächlich die Lösung erst in den Schott'schen Kölbchen mit dem SiO₂ des Glases in Berührung kam. Im ganzen wurden sechs, beziehungsweise vier Kölbchen benutzt, wovon je drei, beziehungsweise je zwei als Kontrollkölbchen funktionierten. Bei der Sterilisation entstand ein schwacher Niederschlag, der aber nicht weiter beirrte. Das Impfmateri- al war für einen Teil des Versuches die Var. *longa*, für den anderen Plasmodienmaterial.

Die Geschichte beider: 9. November 1906 → 21. Jänner → 26. Jänner → 1. Februar → 17. Mai → 3. Juni 1907 und
 7. April → 9. Juli → 22. August → 9. November → 2. Dezember 1906 → 12. Februar → 17. Mai →
 3. Juni 1907,

wobei die angeführten Daten die Überimpfungsdaten darstellen.

Über den Versuchsverlauf mag die Tabelle 1 Aufschluß geben, zu der nur bemerkt sein soll, daß am 9. Juni der Niederschlag in A und B der Var. *longa*-Impfung und in B der zweiten Kultur der Plasmodienimpfung in den K₂Si₂O₅-Kölbchen aufgelöst war.

Es sei auch noch hervorgehoben, daß die gleichmäßig dünne Decke der Var. *longa*, die in den Flüssigkeitskulturen den Boden überzieht, die Beobachtung von Fortschritten in der Kultur ungemein erschwert. Dagegen kann man bei dem körnchenförmigen² Wuchse der Kolonien des »Plasmodien- materials« ohne weiteres das Vorhandensein einer Entwicklung und das Fortschreiten des Wachstums erkennen.

Tabelle 1: Über die Notwendigkeit des SiO₂ für die *Nitzschia putrida* Benecke.³

Tag der Beobachtung	Impfung der Var. <i>longa</i>						Impfung mit »Plasmodienmaterial«			
	θK ₂ Si ₂ O ₅			K ₂ Si ₂ O ₅			θK ₂ Si ₂ O ₅		K ₂ Si ₂ O ₅	
	A	B	C	A	B	C	A	B	A	B
7. Juni	••	••	•	••	•	••			••••	••••
8. >	•••	•••	••	••••	••	•••			••••	••••
9. >							•		••••	
11. >							•••			
19. >							••••			
28. >										

Der Versuch lehrte zunächst bei makroskopischer Betrachtung, daß die Var. *longa* in Nährlösung mit und ohne absichtlichen SiO₂-Zusatz gleich gut gedeiht, daß aber bei Verwendung von Plasmodienmaterial die Entwicklung in den ersten 12 Tagen überhaupt nur in den Kölbchen mit K₂Si₂O₅-Zusatz vor sich geht, während ein Wachstum in Si-freier Lösung zunächst völlig unterbleibt. Erst viel später holte

¹ Seinerzeit von Prof. Molisch einer besonderen Reinigung unterzogen. Vgl. Molisch H., I., Die Pflanze in ihren Beziehungen zum Eisen. Eine physiologische Studie. Jena 1892, Verlag bei G. Fischer, p. 81 und 106.

² Siehe Kapitel XX, p. 107 [763].

³ Über die Bedeutung der verwendeten Zeichen dieser und aller folgenden Tabellen vgl. Tabelle I, Figurenerklärung.

wenigstens das eine SiO_2 -freie die SiO_2 -haltigen Kölbchen ein. Die richtige Deutung dieses auffallend verschiedenen Verhaltens der *Var. longa* und des »Plasmodienmaterials« dürfte wohl die sein, daß die Diatomeen der regelmäßigen Gestalt in viel höherem Grade mit der Fähigkeit der SiO_2 -Lösung ausgestattet sind als das degenerierte »Plasmodienmaterial«, so daß zwischen *Var. longa* in kieselensäurehaltiger und *Var. longa* in »kieselensäurefreier« Lösung in Anbetracht der flotten Lösung der notwendigen (?) Kieselsäure aus den Glaswänden kein Unterschied zu sehen ist. Man wird daher mit gut ausgebildeten Diatomeen in Schott'schen Kölbchen vermutlich nie ein Resultat bekommen. Sind aber die Diatomeen auf dem »Plasmodienstandpunkt« angelangt, dann mag die Aufgabe, sich die nötige Kieselsäure aus dem schwer löslichen Glase zu erarbeiten, doch eine anfangs zu schwere sein, so daß ihnen die Individuen der Kontrollimpfung bedeutend vorauskommen. Vielleicht würden derartige Experimente noch schöner ausfallen, wenn man nicht mit kleinen farblosen Diatomeen vermisches »Plasmodienmaterial«, sondern völlig reine Plasmodien verwenden würde, doch liegen darüber noch keine Erfahrungen vor.

Die am 11. Juni 1907 besorgte mikroskopische Untersuchung bestätigte den makroskopischen Befund. Es wurden zunächst den in der Tabelle mit *A* bezeichneten Kölbchen Proben entnommen und festgestellt, daß in den Impfungen mit der *Var. longa* bei SiO_2 -Zusatz und ohne ihn Entwicklung stattgefunden hatte, in der »Plasmodienimpfung« aber waren die Diatomeen und Plasmodien nur in den $\text{K}_2\text{Si}_2\text{O}_5$ -Kölbchen zu sehen, in allen anderen nicht.

Die zweite Untersuchung aller Kölbchen am Versuchsschlusse bestätigte im großen und ganzen den Befund vom 11. Juni, nur hatten sich auch in dem *A*-Kölbchen bei Si-Ausschluß prächtige Plasmodien eingefunden.

Der Versuch vom 11. Juni 1907 würde somit die Vermutung zulassen, daß bei der Unmöglichkeit, die Glaslösung durch die Diatomeen zu verhindern und in Anbetracht der dadurch bedeutend komplizierteren Methode an ein klares Resultat nur dann zu denken sei, wenn man die degenerierten Diatomeenformen, insbesondere die Plasmodien, für den Versuch verwendet. Es wäre auch gar nicht unmöglich, daß man bei gleichzeitiger Verminderung des ClNa -Gehaltes noch klarere Resultate bekäme.

Zieht man alle jene Erwägungen mit heran und impft mit degeneriertem Diatomeenmaterial, so bekommt man anscheinend Resultate, die das SiO_2 als notwendig erscheinen lassen.¹ Ein derartiges Ergebnis wäre um so weniger überraschend, als eine Lösung der Kieselschale der Diatomee durch die Plasmodien zweifellos nachgewiesen und damit ihr SiO_2 -Hunger recht wahrscheinlich gemacht wurde und da es gelang, wovon noch später² die Rede sein wird, das SiO_2 in den Plasmodien durch Veraschung nachzuweisen. Auch könnte ein derartiges Resultat mit Rücksicht auf die Befunde an Süßwasserdiatomeen durchaus nicht befremden.

Wenn ich trotzdem diese Schlüsse nur mit dem größten Vorbehalt gezogen wissen will, so hat das seinen guten Grund darin, daß zwei noch im Jahre 1907 mit je 20 kleinen Kölbchen aus Schott'schem Glase in Gang gesetzte Versuche völlig negativ ausfielen. Worauf das Mißlingen dieser Experimente zurückzuführen ist, weiß ich nicht, doch glaube ich, hängt der Erfolg viel von der zu Gebote stehenden Menge möglichst diatomeenfreier Plasmodien ab.

¹ Sehr passend läßt sich hier die Bemerkung von Benecke W.I. (l.c., p. 567) über die mögliche Bedeutung der SiO_2 zum Vergleiche heranziehen.

² Siehe Kapitel XVI, p. 83 [739], und XIX, p. 101 [757].

V. Die Reaktion der Nährlösung und des Nährbodens.

Eingehende Versuche mit den braunen Süßwasserdiatomeen¹ hatten festgestellt, daß sie ähnlich wie die von Molisch² kultivierten Grünalgen eine schwach alkalische Reaktion für ihre Kultur bedürfen. Auch die *Nitzschia putrida* scheint nach Benecke³ eine alkalische Reaktion des Substrates zu benötigen.

In sehr einfacher Weise kann man nun die schädliche Wirkung des Säuregehaltes im Nährsubstrat auf die farblose Diatomee in der Art demonstrieren, daß man Kartoffelscheiben zunächst einen Tag lang mit Triester Meerwasser ansaugen läßt, dann sterilisiert und nun noch eine Partie mit Kaliumsilikat schwach alkalisch macht und beiderlei Kartoffeln am Tage darauf zum zweiten Male sterilisiert. Impft man jetzt auf die abgekühlten Kartoffeln die *Nitzschia putrida*, so entwickeln sich nur auf den alkalisch gemachten Scheiben die Diatomeen. Si-Mangel zur Erklärung heranzuziehen, ist wohl schon deshalb unzulässig, weil die die Kartoffeln befeuchtende Schichte Triester Meerwasser, abgesehen von den in ihm schon a priori gelösten SiO₂-Mengen, auch aus dem Glase der Petrischalen bei der Sterilisation gewiß genug SiO₂ löst, um Hunderttausende von Diatomeen am Leben zu erhalten.

Ein Versuch wie der beschriebene wurde mit je zwei Schalen am 2 Juni 1907 durchgeführt und am 6. Juni beendet. Das Impfmateriale gehörte der zweiten Reinzucht an und hatte folgende Geschichte: 9. November 1906 → 23. Jänner → 26. Jänner → 1. Februar → 17. Mai → 2. Juni 1907.

Ein anderer nicht minder beweisender Versuch, der mit dem oft gebrauchten ClNa LA⁴ die Säurewirkung feststellen sollte, wurde am 13. Juni 1908 gemacht und dessen eindeutiges Resultat in der folgenden Tabelle graphisch wiedergegeben.

Tabelle 2: Versuch vom 13. Juni 1908 über die Notwendigkeit einer alkalischen Reaktion des Nährsubstrates für die *Nitzschia putrida* Benecke.

Tag der Beobachtung	Stammagar + K ₂ HPO ₄						Stammagar + KH ₂ PO ₄					
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
16. Juni												
17. >												
19. >												
22. >												
10. Juli												

¹ Richter Oswald, I, I. c., p. 49 [75]. — Gerneck R. (Zur Kenntnis der niederen Chlorophyceen. Beih. z. Bot. Centr. Bd. XXI, 2. Abt., Systematik usf., H. 3, 1907) hat auch verschiedene Diatomeen und Cyanophyceenarten (p. 274) zu kultivieren versucht und sich gewundert, daß »ziemlich baldiger Tod eintrat«. Die Erklärung seines Mißerfolges dürfte er auf p. 273 seiner Arbeit finden, wo es heißt: »Die Lösungen wurden beide in ganz schwach saurer Reaktion benutzt«. Es wird daher auch bei Berücksichtigung der Untersuchungen von Molisch H. nicht wundernehmen, daß Gerneck zu dem höchst befremdenden Resultat bei seinen Grünalgenkulturen kommt: »Einige der kultivierten Algen ließen sich nur sehr schwer ziehen und gelangten in den verschiedenen Nährsubstraten nie zu einem üppigen Wachstum«.

² Molisch H., Die Ernährung der Algen. Süßwasseralgen (II. Abhandlung). Sitzungsber. der kais. Akad. der Wissensch. in Wien, Bd. CV, Abt. I, Oktober 1896, p. [634], 2.

³ Vgl. nur Benecke's Versuch mit Monokaliumphosphat, der die Schädlichkeit einer sauren Reaktion wahrscheinlich zu machen scheint. (Benecke W., I, I. c., p. 564.)

⁴ Siehe Kapitel VI, p. 28 [684].

Stammlösung:

1000 T.	H ₂ O
18	g gewässertes Agar
1	g Leuzin
0·05	g MgSO ₄
0·05	g CaCl ₂
20	g ClNa

Die Zusätze der Phosphate erfolgten in 0·2 pro Mille.

Aus diesem Versuche geht unzweifelhaft die fördernde Wirkung selbst eines so geringen Alkaleszenzunterschiedes hervor, wie er durch den Zusatz von Di- und Monokaliumphosphat gegeben ist.

Sehr interessant ist aber auch das verspätete Auftreten der Diatomeen auf dem Monokaliumphosphatagar. Da alle übrigen Experimente, unter anderen die, welche zur Überprüfung des Nährwertes von Na-Verbindungen¹ angestellt wurden, stets eine stärkere Säurereaktion als unüberwindbares Wachstumshindernis und als tödend kennen gelehrt hatten, bleibt wohl nur die folgende Annahme als zusehentlich richtige Erklärung dieser Erscheinung übrig: Die Diatomeen sind imstande, alkalische Substanzen auszuschcheiden, mit denen sie sehr schwache Säuren, die nicht tödlich auf sie wirken, abzustumpfen vermögen, so daß sie auf diesem allmählich selbst präparierten, selbst alkalisch gemachten Boden zu einer gegenüber auf alkalischem Nährboden geimpften Nitzschien wohl verspäteten, aber immer noch recht beachtenswerten Entwicklung gelangen können. Leider wuchsen die Diatomeen auf 2% ClNa-Drigalskiagar² nicht, so daß die durch die Blaufärbung des violetten Nährbodens sicher gegebene Kontrolle dieser Erklärung entfällt. Daß auch sehr starke Alkaleszenz schädlich wirkt, zeigen die schon angeführten Na-Versuche³ sehr deutlich.

Hierher gehören endlich viele im Kapitel »negative Auxanogramme«⁴ mitgeteilte Erfahrungen von der tödenden Wirkung saurer Substanzen und vom Absterben der farblosen Diatomeen in der Umgebung eines Pilzrasens u. a. m., so daß heute wohl mit Bestimmtheit erklärt werden kann, die *Nitzschia putrida* Benecke benötige wie ihre braunen Schwestern des Süßwassers eine schwach alkalische Reaktion zu ihrem normalen Gedeihen.

¹ Siehe Kapitel II, p. 15, 16 [671, 672].

² Drigalski v. und Conradi H., Über ein Verfahren zum Nachweis der Typhusbazillen. Zeitschr. f. Hyg. u. Inf. Kr., 1902, Bd. 39, p. 283.

³ Siehe Kapitel II, p. 15, 16 [671, 672].

⁴ Siehe Kapitel VIII, p. 36 [692].

VI. Einfache Rezepte zur Darstellung passender Nährböden für die Kultur der *Nitzschia putrida* Benecke.

Die Erfahrungen über die Ernährung der *Nitzschia putrida* Benecke, die in den früheren Kapiteln niedergelegt sind, gestatten uns nun, ähnlich wie bei den braunen Süßwasserdiatomeen,¹ einige Rezepte für Nährböden anzugeben, auf denen sie vortrefflich gedeiht.

Um in der Folge eine rasche und eindeutige Bezeichnungsweise zu gebrauchen, habe ich, wie das ja übrigens auch schon an einzelnen Stellen geschehen mußte,² Abkürzungen gewählt, die bei den zu zitierenden Rezepten in der Klammer dem Namen beigelegt sind und die später ausschließlich verwendet werden sollen.

Die einfachsten und billigsten Nährböden mögen den Anfang machen.

I. Triester Meerwasser-Pepton [Triest. Meerw. P.]

$$\left[\begin{array}{ccc} \text{»} & \text{»} & \text{» A.} \\ \text{»} & \text{»} & \text{» Gel.} \end{array} \right]^3$$

1000 T. Triester Meerwasser
10 g Pepton

II. Triester Meerwasser-Pepton-Dextrin [Triest. Meerw. P D.].

$$\left[\begin{array}{ccc} \text{»} & \text{»} & \text{» » A.} \\ \text{»} & \text{»} & \text{» » Gel.} \end{array} \right]$$

1000 T. Triester Meerwasser
5 g Pepton
5 g Dextrin

Zu diesen Lösungen können nun entweder 18 g Agar oder 100 g Gelatine zugesetzt werden. Man erhält so die in den zweiten Klammern angegebenen festen Nährböden.

Nr. II hat dieselbe Zusammensetzung wie jene Nährböden, die Molisch⁴ bei der Kultur der Meerespurpurbakterien benutzte.

Zur Darstellung noch die folgenden Bemerkungen:

Die Lösungen von Pepton und Pepton-Dextrin in Triester Meerwasser brauchen nur filtriert zu werden ohne eigene Klärung mit Eiweiß, da bereits die Salze des Meerwassers die aus dem Pepton stets auftretende Trübung völlig ausfällen.

Zur Kultur in Kölbchen oder in Eprouvetten, besonders für Dauerkulturen zum Aufheben der Diatomeen für längere Zeit, sind solche Lösungen wie die beschriebenen und die noch zu besprechende Leuzinkochsalzflüssigkeit ganz vorzüglich geeignet. Die Reaktion dieser Flüssigkeiten ist sofort schwach alkalisch.

Auch beim Triest. Meerw. P- und beim Triest. Meerw. P D A. ist aus den angeführten Gründen eine Klärung unnötig. Ebenso entfällt ein Alkalisierung des Nährsubstrates, da es ohnehin alkalisch

¹ Richter Oswald, I, l. c., p. 52 [78].

² Siehe Kapitel III, p. 20 [676], V, p. 25 [681].

³ A. = Agar, Gel. = Gelatine.

⁴ Molisch H., Die Purpurbakterien nach neuen Untersuchungen. Eine mikrobiologische Studie. Jena 1907, Verl. bei G. Fischer, p. 11.

reagiert. Ich verfare aus Bequemlichkeitsrücksichten stets so, daß ich am Abend vor dem Tage, an dem ich das Agar herstellen will, die notwendigen 18 g Agar abwäge, mit der Schere zerschneide und sofort in 1 l Triest. Meerw. hineingebe. Dadurch saugt sich das Agar über die Nacht mit Wasser an und löst sich nun unschwer bei vier- bis sechsständigem Aufenthalt im siedend heißen Sterilisator. Dann filtriere ich das Agar gewöhnlich das erste Mal, löse das Pepton, beziehungsweise Pepton und Dextrin im Filtrat, erhitze wieder und filtriere ein zweites Mal, was keine zwei Stunden benötigt. Es ist natürlich auch nichts dagegen einzuwenden, wenn man die Chemikalien gleich nach der Auflösung des Agars in die heiße Flüssigkeit gibt, nur dauert dann die einmalige Filtration etwa gerade so lange als die doppelte früher beschriebene.

Bei der Herstellung der Gelatine ist ein Zusatz von NaOH bis zur schwach alkalischen Reaktion und Klärung mit Eiweiß absolut nötig. Ich will nur erwähnen, daß eine derartige Gelatine bis zum Einfüllen in die Eprouvetten, die erste Sterilisation inbegriffen, in zwei Stunden unschwer fertiggestellt sein kann. Wegen leicht auftretender Bakterien¹ ist die Gelatine innerhalb 24 Stunden zweimal je $\frac{3}{4}$ Stunden zu sterilisieren.

III. Chlornatrium-Pepton-Dextrin [ClNa P D.]

[» » » » A.]
[» » » » Gel.]

1000 T. dest. Wasser

30 g ClNa

5 g Pepton

5 g Dextrin

Im übrigen verfährt man wie bei I und II.

Rezept III ist die von Molisch² für Süßwasserpurpurbakterien empfohlene Nährlösung mit Kochsalzzusatz.

IV. Chlornatrium-Pepton-Glyzerin [ClNa P Gl.]

[» » » » A.]
[» » » » Gel.]

1000 T. dest. Wasser

30 g ClNa

10 g Pepton

5 g Glyzerin

Spur Fleischextrakt

Sonst wie I und II.

Rezept IV gleichlautend mit dem von Molisch neuestens für die Zucht des *Bacterium phosphoreum* (Cohn) Molisch³ angegebenen Rezept, bei dem selbstverständlich statt der beiden ersten Posten für die Kultur der Diatomee Triester Meerwasser verwendet⁴ werden kann.

V. Chlornatrium-Leuzin [ClNaL.]

[» » » A.]
[» » » Gel.]

¹ Vgl. Heim L., Zählebige Keime in Gelatine. C. f. B. u. P., XIII, 1893, Nr. 20, p. 649.

² Molisch H., I. c., p. 12.

³ Molisch H., Photogene Bakterien. — Fr. Lafars, Handbuch der technischen Mykologie, 1907, I. Bd., p. 629.

⁴ Molisch H., Die Leuchtbakterien im Hafen von Triest. Sitzungsber. der kais. Akad. der Wissensch. in Wien, math.-naturw. Klasse, Bd. CXIII, Abt. I, Oktober 1904, p. [514], 2. Leuchtende Pflanzen, I. c., p. 61.

1000 T. dest. Wasser
 20 oder 30 g ClNa
 1 g Leuzin
 0·2 g K₂HPO₄
 0·05 g MgSO₄
 0·2 g Ca(NO₃)₂ oder CaCl₂
 Spur FeSO₄
 > K₂Si₂O₅

Der letzte Posten kann auch wegfallen. Statt 1 g Leuzin verwendete ich mitunter 0·5 g pro Mille. Das Agar wurde stets vor dem Zusatze gewässert. Das fertige ClNa L.A. ist vollkommen wasserklar im flüssigen, weiß im erstarrten Zustande. Wegen seiner völlig übersichtlichen Zusammensetzung ist es besonders zur Beantwortung ernährungsphysiologischer Fragen sehr zu empfehlen.

Anfangs setzte ich stets 30 g ClNa zu der Flüssigkeit; nachdem sich aber in der Folge¹ eine sehr gute Entwicklung der Diatomeen in 2% ClNa hatte feststellen lassen, wurde die jeweilige Kochsalzzugabe auf 2% herabgesetzt.

Außer diesen besonders bewährten Nährböden kamen für bestimmte Zwecke noch andere in Anwendung, die hier gleichfalls angeführt und mit den in der Arbeit gebräuchlichen Bezeichnungen benannt werden mögen.

VI. Triester Meerwasser-Agar [Triest. Meerw. A.]

1000 T. Triest. Meerw.
 18 g ungewässertes Agar

verwendet zur zweiten Reinzucht der Diatomee.

VII. 2% Chlornatrium-Mineralsalzagar [2% ClNa MSA.]

1000 T. dest. Wasser
 18 g gewässertes Agar
 20 g ClNa
 0·2 g K₂HPO₄
 0·05 g MgSO₄
 0·2 g Ca(NO₃)₂ oder CaCl₂ oder KNO₃
 Spur FeSO₄

Eine Klärung mit Eiweiß entfällt natürlich.

Rezept VII ist zum gleichen Zwecke wie VI verwertbar. Ein Agar dieser Zusammensetzung ist mit Magermilchzusatz² zur Demonstration der Milchlösung, mit 1% statt 2% ClNa und KNO₃ als N-Quelle zur Erzeugung von Plasmodien³ vorzüglich geeignet.

VIII. Milchzucker-,⁴ Traubenzucker-,⁵ beziehungsweise Inulin-⁶ Agar [Mz A., Trz. A., bzw. IA.]

unterscheidet sich vom früheren nur durch den Zusatz von 0·4% Milch-, 1% Traubenzucker oder 0·1% Inulin.

ermöglicht auch üppige Diatomeenentwicklung.

IX. 2 bis 3% Chlornatriumgelatine⁷ [2 bis 3% ClNaGel.]

¹ Siehe Kapitel II, p. 12 [668].

² > > X, p. 39 [695].

³ > > III, p. 20 [676], XIX, p. 101 [757].

⁴ > > III, p. 19 [675], und X, p. 41 [697].

⁵ > > III, p. 19 [675].

⁶ > > XIII, p. 72 [728].

⁷ > > III, p. 19 [675].

1000 T. dest. Wasser
20–30 g ClNa
100 g Gelatine
(Klärung mit Eiweiß)

X. Kartoffelscheiben.¹

Ein Nährboden, auf dem die farblose Diatomee sehr gut gedeiht und der für ihre Kultur wohl zum ersten Male angewendet wurde, sind Salzkartoffeln.

Man verfährt dabei so, daß man die in Flußwasser abgekochten Kartoffelscheiben auf einen Tag in Triester Meerwasser legt und sie nach der ersten Sterilisation mittels $K_2Si_2O_5$ schwach alkalisch macht. Die Diatomeen entwickeln sich auf diesem gewiß ungewöhnlichen Substrat sehr üppig.

¹ Siehe Kapitel V, p. 25 [681].

VII. Über das Verhalten der *Nitzschia putrida* Benecke gegen den atmosphärischen und den von der Nährsubstanz absorbierten Sauerstoff.

Zwei der unangenehmsten Umstände bei der Überprüfung der gleichen Frage bei den rein gezüchteten braunen Süßwasserformen der Diatomeen¹ waren die, daß 1. die Diatomeen im Dunkeln nicht gedeihen wollten und 2., daß man bei der Zucht im Lichte auch im O-freien Raume nie sagen konnte, ob die Diatomeen, die sich recht gut entwickelten, wirklich ohne freien O auskamen oder sich den für ihr Gedeihen nötigen selbst erzeugten, so daß das betreffende Kapitel der früheren Arbeit mit den Resignation verratenden Zeilen² geschlossen werden mußte:

»Die exakte Beantwortung der Frage nach der obligaten oder fakultativen Aerobiose wird aber erst möglich sein, wenn jene Kombination organischer, beziehungsweise anorganischer N-Quellen bei geeigneter C-Zufuhr gefunden sein wird, die bei Ausschluß von Bakterien das Wachstum der Diatomeen auch im Dunkeln gestattet.«

In der *Nitzschia putrida* haben wir aber eine Diatomee vor uns, die im Dunkeln wächst und die als farbloser Organismus sich den Assimilationssauerstoff auch nicht selber zu erzeugen vermag; es war daher nur natürlich, daß ich der Frage nach der Notwendigkeit des atmosphärischen Sauerstoffes gerade bei ihr, so wie die ersten Reinkulturen erreicht waren, die volle Aufmerksamkeit zuwendete.

Der erste Versuch wurde daher schon am 25. April 1906 durchgeführt. Er bestand aus vier Stiehkulturen in »Leuchtbakteriengelatine«,³ von denen zwei in Absorptionsröhren mit Pyrogallussäure und 3% KOH⁴ gegeben, mit Stöpseln versehen und mit Paraffin gut verschmiert wurden. Die Kontrolle des Versuches erfolgte am 10. Mai, 6. Juli und 21. August.

Die Ergebnisse dieses und aller weiteren Experimente dürften wohl am übersichtlichsten und unter Vermeidung vieler Worte zutage treten, wenn ich sie wieder unter Zugrundelegung der für die Tabellen I und II maßgebend gewordenen Zeichenerklärung in umstehender Weise graphisch wiedergebe.

Zur Erläuterung der Tabelle 3 muß noch darauf hingewiesen werden, daß die Bezeichnungen der Nährböden völlig verständlich werden, wenn man das Kapitel VI daraufhin durchgesehen hat, und daß 1. R und 2. R soviel bedeutet wie Diatomeen der ersten und zweiten Reinzucht. Es dürfte begreiflich erscheinen, daß ich bei den entscheidenden Versuchen, nachdem mir im November 1906 das zweite Mal die Reingewinnung der farblosen Diatomee geglückt war, auch dieses neue Material benützte, um dem Einwande zu begegnen, daß die gewonnenen Resultate nur für abnorm veränderte und nicht normalwüchsige farblose Nitzschien gelte.

Wie die Tabelle 3 zeigt, wurden also immer Parallelversuche durchgeführt mit Material beider Reinzuchten. Das der ersten war die sogenannte »lange Varietät«, *Var. longa*,⁵ wie sie seit dem 9. November 1906 einer plötzlich aufgetretenen kleinen Form gegenüber unterschieden werden mußte. Ihre Geschichte spiegelt sich in der durch die folgenden Impfdaten gegebenen Reihe wider: 9. November 1906 → 22. Jänner → 26. Jänner → 1. Februar 1907 für den II., beziehungsweise → 17. Mai für den III. und vom 24. Mai 1907 für den IV. Versuch. Das Impfmateriale der zweiten Reinzucht stammte für den II. Versuch

¹ Oswald Richter, I, l. c., p. [73] 47.

² Derselbe, I, l. c., p. [75] 49.

³ Siehe Molisch H., Über das Leuchten des Fleisches, insbesondere toter Schlachttiere. Bot. Zeitg. 1903, p. 14.

⁴ Siehe Lehmann K. B. und Neumann R., Atlas und Grundriß der Bakteriologie. München 1896. Verl. von J. F. Lehmann (Text), p. 421.

⁵ Siehe Kapitel XIX, p. 96 [752].

Tabelle 3: Über die Notwendigkeit freien Sauerstoffes für die *Nitzschia putrida* Benecke.

Tag der Beobachtung	O-Zutritt				O-Abschluß				Versuch vom:				
					Pyrogallol		Erbsen						
			A	B	A	B							
10. Mai 1906									25. April 1906 mit Leuchtbakterien-gelatine ¹				
6. Juli 1906													
21. Aug. 1906													
Tag der Beobachtung	1. R		2. R						1. R		2. R		
	A	B	a	b					A	B	a	b	
22. Mai 1907													17. Mai 1907 mit Triest. Meerw. PDA. ²
27. > 1907													
11. Juni 1907													
15. > 1907													
Tag der Beobachtung	1. R		2. R						1. R		2. R		
	A	B	a	b					A	B	a	b	
27. Mai 1907													24. Mai 1907 mit Triest. Meerw. PD Gel. ²
31. > 1907													
25. Juni 1907													
8. Okt. 1907													
Tag der Beobachtung	1. R		2. R		1. R		2. R		1. R		2. R		
	A	B	a	b	A	B	a	b	A	B	a	b	
18. Juni 1907													15. Juni 1907 mit Triest. Meerw. PDA ²
21. > 1907													
25. > 1907													
3. Juli 1907													
8. Okt. 1907													

¹ Vgl. Molisch H., Leuchtende Pflanzen, I. c., p. 61; siehe auch Kapitel VI, p. 28 [684], 4. Rezept.² Vgl. das Kapitel VI, p. 28 [684], 3. Rezept.

aus der fünften, für den dritten aus der sechsten Überimpfung der rein gewonnenen Diatomee. Seine Geschichte wird aus den nachfolgenden Impfdaten klar: 13. November → 15. November → 22. November → 24. November 1906 → 22. Februar → 3. März 1907, für den II., beziehungsweise 17. Mai für den III. und vom

24. Mai 1907 für den IV. Versuch. Die Daten unter dem Ausdrucke »Versuch« sind die Impfdaten der betreffenden Experimente.

Endlich wären noch die Bezeichnungen »Pyrogallol« und »Erbsen« zu erläutern, die aus der Besprechung der Versuchsanstellung verständlich werden dürften.

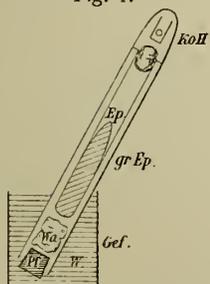
Zur Methodik der Versuche über die Notwendigkeit des Sauerstoffes für die farblose Diatomee möchte ich noch erwähnen, daß ich außer der üblichen von Buchner¹ eingeführten Absorption des O durch alkalisches Pyrogallol noch eine neue biologische Methode² in Anwendung brachte, die von Prof. Molisch herrührt und deren Veröffentlichung ich in seinem Auftrage besorge. Der Gedanke, der ihr zugrunde liegt, ist sehr einfach und leicht verständlich. Keimlinge atmen ungemein stark und veratmen relativ rasch den Sauerstoff eines abgeschlossenen Luftquantums. Man kann sich davon leicht überzeugen, wenn man die Keimlinge mit einer Leuchtbakterienkultur luftdicht abschließt. Schon nach 6 Stunden ist das Leuchten fast nicht mehr zu sehen und nach 12 Stunden kann man auch bei längerem Verweilen in einer Dunkelkammer absolut kein Licht der Bakterienkultur bemerken.

Das Wörtchen »luftdicht« habe ich sperren lassen, denn es wird selbst in der neuesten umfassenden Arbeit über die Kultur der obligaten Anaerobionten von Kürsteiner,³ in der auch die gesamte Literatur über diese Frage nachgesehen werden mag, noch immer zu wenig betont. Kürsteiner³ zeigt, daß das allübliche Beschmieren der Gummistöpsel mit Paraffin nicht nur nichts nützt, sondern geradezu durch Auftragen eines O-Speichers schädlich wirkt. Ist nun diese Erkenntnis gewiß von außerordentlichem Werte für die Vereinfachung der Methode und erweist sich auch die von Burri⁴ empfohlene Tränkung eines dem Gummipfropf unmittelbar anliegenden Wattepfropfes mit dem alkalischen Pyrogallol als ungemein wertvolle Sauerstoff-Abfangvorrichtung, so ist damit doch noch nicht dem Luftsauerstoff das Eindringen in die Eprouvette bei längerer Versuchszeit endgültig abgeschnitten. Diesem Übelstand sollte, noch ehe Burri's Arbeiten seine weitgehenden Verfeinerungen der Anaerobiontenkultur bekannt machten, durch einen Quecksilberabschluß abgeholfen werden,⁵ doch brachte man damit die Fehlerquelle der giftigen Dämpfe als beirrenden Faktor in die Versuchsanstellung.

Nimmt man nun statt Hg Leitungswasser, so wird der Vorteil, den der Hg-Abschluß bot, erhalten, ohne dessen Nachteile mit in den Kauf nehmen zu müssen.

Die neue Versuchsanstellung ist also die der folgenden schematischen Figur.

Fig. 1.



Schematische Darstellung der Versuchsanordnung für die Herstellung eines völlig O-freien Kulturraumes.

Gef. = Glasgefäß,

W. = Leitungswasser,

Pf. = Gummipfropf,

Wa. = Watte, getränkt mit alkalischem Pyrogallol, von Molisch durch Keimlinge ersetzt,

Ep. = Kultureprouvette,

gr. Ep. = große Eprouvette als Begrenzung des O-freien Raumes,

KOH = Gläschen mit Kalilauge, nur eingefügt, wenn Keimlinge als O-Absorbens fungieren.

Da Molisch's neue Methode der Herstellung eines O-freien Raumes eine biologische Methode ist, so erhellt sofort daraus, daß ihre Güte und Brauchbarkeit von den biologischen Faktoren, insbesondere der Wärme, abhängt. Im kühlen Zimmer benötigt man zum Auslöschen der Leuchtbakterien rund vier-

¹ Buchner H., Eine neue Methode zur Kultur anaerober Mikroorganismen. C. f. B. u. P., 1888, 2. Jahrg., IV. Bd., p. 149.

² Als O-Absorbens wurde auch Schafleber u. dgl. empfohlen; vgl. darüber Note 3.

³ Kürsteiner J., Beiträge zur Untersuchungstechnik obligat anaerober Bakterien sowie zur Lehre von der Anaerobiose überhaupt. C. f. B. u. P., II. Abt., Bd. XIX, Nr. 4/6. Untersuchungen über Anaerobiose mit Anwendung der Leuchtbakterienmethode als Kontrollmittel für das Fehlen des Sauerstoffes. Schweizerische wissenschaftl. Nachrichten, 1, Jg., 1907, p. 17 u. 23.

⁴ Burri R., vgl. bei Kürsteiner J.

⁵ Hesse W., Ein neues Verfahren d. Züchtung anaerober Bakterien. Z. f. Hygiene u. Infekt., Bd. XI, 1891, p. 237. — Z. f. w. Mikroskopie, Bd. IX, 1892, p. 242.

mal so viel Zeit als im warmen Thermostaten mit einer Temperatur von 23° C. In diesem Falle ist aber die Wirkung ausgezeichnet.

Von Wichtigkeit ist bei der Verwendung der Keimlinge ein Körnchen KOH zur Absorption der gebildeten CO₂, die nämlich, in größerer Menge entwickelt, leicht eine Lockerung des Stöpsels bedingen kann. Die KOH wird, wie die Fig. 1 darstellt, in einem kleinen Gläschen über den Wattepfropf der Eprouvette (Strichkultur) untergebracht. Durch die Absorption des CO₂ entsteht übrigens auch ein luftverdünnter Raum, wodurch der Stöpsel der großen Eprouvette noch fester in sie hineingetrieben wird.

Stellt man vergleichende Versuche mit Strichkulturen von *Bacterium phosporeum* (Cohn) Molisch an nach der Methode von Molisch mit Keimlingen und KOH und nach Buchner-Burri in der verfeinerten, in der Fig. 1 dargestellten Versuchsanordnung, so arbeiten beide O-Absorbenten gleich rasch.

Es dürfte sich daher die einfache Molisch'sche Versuchsanstellung in pflanzenphysiologischen Laboratorien, wo gewöhnlich Keimlinge zur Verfügung stehen, rasch einbürgern.

Es war nur natürlich, daß auch ich mir diese einfache O-Absorptionsmethode bei meinen Versuchen zu eigen machte und auf derartig durchgeführte Experimente deutet das Wörtchen »Erbsen«.

Die Versuchsanstellung war also im I. Versuch nur Absorption des O durch Pyrogallussäure, im II. und III. nur durch Erbsen, im IV. durch beide.

Da jeder der Versuche II und III durch die Rücksichtnahme auf die beiden Reinzuchten eigentlich aus zwei, der IV. mit Rücksicht auf die Anwendung von Pyrogallussäure neben »Erbsen« aus 8 Teilversuchen mit je 4 Eprouvetten besteht, die Gesamtmenge der Teilversuche also die Zahl 12 erreicht, so dürften die gewonnenen Ergebnisse wohl als hinreichend gestützt erscheinen.

Alle Versuche zeigen übereinstimmend innerhalb der ersten 20 Tage im O-freien Raume nicht eine Spur von Entwicklung. Die in dem ersten Experiment nach 1½ Monaten, im zweiten nach fast 1 Monat in einzelnen Eprouvetten beobachtete und auch durch die mikroskopische Untersuchung erwiesene Entwicklung möchte ich durch zufälliges Undichtwerden des Verschlusses oder die Paraffinwirkung erklären (der Wasserabschluß kam nämlich damals noch nicht in Verwendung).

Am sprechendsten sind Versuch III und IV, wo noch am 8. Oktober, also nach 4½ Monaten, entweder nicht eine Spur oder erst nach langer Zeit eine ganz geringe Entwicklung zu sehen war.

Dagegen zeigten die Kontrolleprouvetten bei O-Zutritt stets massenhaft Diatomeen. Beim letzten Versuch z. B. finde ich in meinem Protokoll die Bemerkung: »Bei Luftzutritt Unmassen von Diatomeen, die dichtgefaltete Häute bilden«.

Nach diesen Ergebnissen kann man wohl mit gutem Gewissen erklären, daß die farblose *Nitzschia* freien O für ihre Entwicklung braucht.¹

Gleichzeitig lehren aber die gemachten Experimente auch, daß sie ungemein lang ohne direkte Zufuhr von Sauerstoff, ich stelle mir vor, in einer Art Luftmangelstarre auszuhalten vermag, so daß sie bei plötzlichem O-Zutritt in wenigen Tagen üppige Kolonien bildet. Ich habe mich beim Auseinandernehmen der geglückten Versuche und längerem Stehenlassen in normaler Atmosphäre oft von dieser Tatsache des Neuerwachens überzeugen können und nur so ist das plötzliche Auftreten von Diatomeenkolonien im IV. Versuche verständlich. Offenbar trat aus irgendeinem Grunde eine leichte Lockerung der Stöpsel der Eprouvetten B und a des Pyrogallolversuches ein und ermöglichte so eine Entwicklung der noch am Leben gebliebenen Diatomeen. Dauert der Versuch genug lange, so sterben aber die meisten oder alle Diatomeen unter eigentümlichen Schwärzungserscheinungen ab; doch darüber vgl. das Kapitel XVI, p. 80 [736].

Zum Schlusse sei noch ein Gedanke erwähnt, der durch das Ergebnis des II. Versuches nahegelegt war.

¹ Mit diesem Befunde würde auch Benecke's (I, l. c., p. 554 und 558) Angabe von einer positiven Aerotaxis gut harmonieren. Doch spricht er an einer anderen Stelle (p. 556) von einem Anpassungsvermögen der Nitzschien »an so geringe Sauerstoffspannungen, wie die Beggiatoen sie nach Winogradsky's Untersuchungen lieben«.

Am Versuchsschluß roch nämlich der Inhalt der Absorptionsröhre infolge von in den abgestorbenen Erbsen tätigen Bakterien sehr stark nach Buttersäure. Da die Entwicklung in den »O-freien« Kulturen so üppig war, ließ sich die Annahme einer »fakultativen Anaerobiose« nicht von der Hand weisen, und zwar vermutete ich, daß vielleicht die Buttersäure diese Wirkung bedinge, indem die Diatomee imstande sei, bei O-Mangel den O aus der Buttersäure oder irgendeiner anderen Substanz abzuspalten.

Da aber der IV. eigens zur Überprüfung dieser Frage hergestellte Versuch nichts dem II. Analoges zeigte, habe ich die Sache nicht weiter verfolgt. Es wäre aber immerhin denkbar, daß man noch eine organische Verbindung ermitteln dürfte, die der farblosen Diatomee auch im O-freien Raume durch Abspaltung des O aus dieser Verbindung ein ganz erträgliches Dasein bieten, sie zu einem fakultativen Anaerobionten stempeln würde.

Von dem letzten Versuche wurden 8 Eprouvetten photographiert (Fig. 5, Taf. II), die ganz deutlich die Wirkung des O-Zutrittes wiedergeben.

Ich möchte nun noch auf die Photographie Fig. 2, Taf. II, des Kochsalzversuches vom 14. März 1907 hinweisen, wo man in den StICKkulturen, besonders bei 3, 4, 5% ClNa ganz deutlich Bilder wahrnimmt, die den Bildern völlig gleichen, welche Hiekel¹ vom Soorpilz bekommen hat, wenn er ihn in StICKkulturen hielt. Es dürfte daher kein Fehlschluß sein, wenn man annimmt, daß unsere Diatomee ähnlich wie der Soor an eine ganz bestimmte Sauerstoffspannung besonders angepaßt ist, die unter der normalen Sauerstoffspannung liegt. Verbände man nun diejenigen Stellen, bis wohin in gleichen Zeiten die Diatomeen bei horizontalem Wachstum in der Gelatine gelangt sind, miteinander, so bekäme man, wie Hiekel² beim Soorpilz eine Kurve, die uns über das Sauerstoffbedürfnis der *Nitzschia putrida* eine klare Vorstellung verschafft.

Das Ergebnis dieses Kapitels würde also lauten: Die *Nitzschia putrida* Benecke ist ein an eine etwas niedere O-Spannung, als die der Luft ist, angepaßter Aerobiont, womit Benecke's³ frühere Bemerkung über mäßige Aerobiose in völligem Einklang stünde. Auch könnte man auf jene Erfahrungen hinweisen, die diesbezüglich bei den braunen Süßwasserformen bei Zucht in Schüttelkulturen⁴ gemacht wurden.

¹ Hiekel R., Beiträge zur Morphologie und Physiologie des Soorerregers (*Dematium albicans* Laurent = *Oidium albicans* Robin). Sitzungsber. der kaiserl. Akademie der Wissensch. in Wien, mathem.-naturw. Klasse, Bd. CXXV, Abt. I, Februar 1906, Fig. 11 und 12.

² Hiekel R., l. c., p. [172], 14.

³ Benecke W., I, l. c., p. 556.

⁴ Richter Oswald, I, l. c., p. [74] 48.

VIII. Auxanogramme.

Negative Auxanogramme.

Daß braune Süßwasserdiatomeen vorzügliche Objekte zur Demonstration der sogenannten Auxanogramme abgeben, ist bereits früher¹ dargetan worden. Es lag daher der Gedanke nahe, die farblose Diatomee auch in dieser Beziehung zu überprüfen.

Den Anstoß dazu gab eine Beobachtung vom 15. Februar 1907.

In eine Petrischale, die mit der *Nitzschia putrida* geimpft worden war und die eine prächtige Entwicklung der Diatomee aufwies, mußte von der Seite ein *Penicillium* eingeflogen sein, denn am 15. Februar sah man einen Halbkreis von $\frac{1}{2}$ cm Radius ganz durchwuchert von diesem Pilze und um ihn herum eine $\frac{1}{2}$ cm breite, ringförmige Zone, in der man makroskopisch gar keine Diatomee sah, während jenseits derselben die Diatomeen in dichten Massen gelagert waren. Das Bild konnte nur so gedeutet werden, daß die wenigen im Mikroskop sichtbaren Diatomeen der makroskopisch »leeren« Zone durch die Ausscheidungsprodukte des Pilzes getötet worden waren und daß jenseits der Giftzone des ungebetenen Eindringlings Bedingungen im Nährboden entstanden, die auf das Diatomeenwachstum ungemein förderlich wirkten. — Man hatte es hier mit einem negativen Auxanogramm zu tun, entstanden durch die Giftwirkung eines Pilzes, was um so weniger wundern kann, als Penicillien sehr oft Oxalsäure auszuschcheiden pflegen² und wir eben³ erkannt haben, daß für die *Nitzschia putrida* eine schwach alkalische Reaktion allein brauchbar ist.

Ein in ähnlicher Weise gewonnenes negatives Auxanogramm wurde am 14. Mai 1907 aufgenommen. Dabei war die Diatomee auf einer Agarscheibe mit 2·5% Agar in Strichform geimpft worden. Der diatomeefreie Ring um den Pilz war 5 mm breit (vgl. Fig. 11 der Taf. III).

Positive Auxanogramme.

Am 3. Februar 1907 wurden mit einem Agar der folgenden Zusammensetzung:

1000	T. dest. Wasser,	0·05 g	MgSO ₄ ,
18	g gewässertes Agar,	Spur	FeSO ₄ ,
0·2	g Ca(NO ₃) ₂ ,	Spur	K ₂ Si ₂ O ₅ ,
0·2	g K ₂ HPO ₄ ,	30 g	ClNa

Dichtsaaten von farblosen Diatomeen hergestellt und nun mit sterilen Glasstäben Leuzin-, beziehungsweise Peptontröpfchen aufgetragen. Andererseits wurde auf Schalen mit Leuzin-, beziehungsweise Peptonagar ohne Kochsalzzusatz immer je ein Tröpfchen NaCl oder NaOH fallen gelassen.

Bereits nach 8 Tagen sah man in den mit Pepton- und Leuzintropfen versehenen Schalen, leider aber allerwärts im Agar, Diatomeenkolonien.

¹ Oswald Richter, I, l. c., p. [83] 57.

² Bary A. de, Vergleichende Morphologie und Biologie der Pilze, Mycetozoen und Bakterien. Leipzig, Verl. b. W. Engelmann, 1884, p. 11. Siehe auch Wehmer C., Entstehung und physiologische Bedeutung der Oxalsäure im Stoffwechsel einiger Pilze. Bot. Zeitg., 1891, 49. Jahrg., p. 233.

³ Vgl. Kapitel V, p. 26 [682].

Auch spätere, im März 1908 mit Tröpfchen Triest. Meerw. P D A. und ClNa M S A. ausgeführte Versuche fielen analog aus.

Den Grund für diese Mißerfolge möchte ich darin sehen, daß die Diatomee, wie früher¹ dargetan wurde, auch das Agar im Notfall zu assimilieren vermag. Man wird also auf diese Weise nicht zu positiven Auxanogrammen kommen. Dagegen dürften Monokaliumphosphat-Agarplatten, an einer Stelle mit einem Tröpfchen KOH oder K_2HPO_4 schwach alkalisch gemacht, ganz prächtige Auxanogrammbilder liefern, wenigstens erweckten die in Kapitel V, p. 25 [681], beschriebenen Kulturen auf Monokaliumphosphat mit der dichten Ansammlung der Diatomeen um die Impfmasse ganz diesen Eindruck.

Schließlich könnte man auch die ungewöhnlich starke Vermehrung der farblosen Nitzschien rings um die Giftzone der Pilzrasen, wie sie früher beschrieben wurde, als ein positives Auxanogramm der leichter und weiter ins Agar diffundierenden Stoffwechselprodukte der Pilze deuten. (Vgl. Fig. 11 der Tafel III den Pilzrasen rechts oben.)

¹ Siehe Kapitel III, p. 20 [676].

IX. Versuche über Oligodynamie.

Im Anschluß an die angeführten Experimente über die Erzeugung negativer Auxanogramme wurden im Hinblick auf die positiven Ergebnisse mit braunen Süßwasserdiatomeen¹ auch einige Versuche über die oligodynamische Wirkung von Kupfer- und Nickelmünzen auf die *Nitzschia putrida* durchgeführt.

Am 25. Februar 1907 wurden in je zwei mit gut gereinigten Zehnhellerstücken und in zwei mit ebenso gereinigten Hellermünzen versehene sterilisierte Petrischalen Dichtimpfungen der Diatomee in Agar ausgegossen und nach dem Erstarren des Agars in gewohnter Weise auf Keimschalen, bedeckt von Glas- und Blechsturz, untergebracht.

Nach 14 Tagen war der Ring um die Kupfer- und Nickelmünzen ungemein deutlich zu sehen, bei den Kupferstücken blieb er auch bis zum Versuchsschluß gleich breit. Am 14. Mai wurden die in den Fig. 9 und 10, Taf. III wiedergegebenen Photographien eines derartigen Versuches hergestellt.

Ich möchte hier bezüglich der Aufnahmen bemerken, daß die eine der Photographien (Fig. 10) bei sehr schräg auffallendem Sonnenlicht und fast geschlossener Blende, die andere nach Vitalfärbung mit Neutralrot² und bei durchfallendem Lichte gewonnen wurde (vgl. Fig. 9).

Die in den genannten Figuren dargestellte Ringzone maß an ihrer breitesten Stelle 6 mm, an ihrer schmalsten 3 mm, war also bedeutend schmaler als die, welche man mit Hellermünzen bei Anwendung der braunen Süßwasser-*Nitzschia* erhielt.¹ Im Einklang damit steht auch die Erfahrung, daß die farblosen Diatomeen an eine Nickelmünze später völlig herankamen und sich nicht weiter um ihre Gegenwart zu kümmern schienen, während sie bei dem zweiten Zehnhellerstück nur einseitig eine scharfe Zone von bis 5 mm Breite frei ließen.

Wenn man die Bilder genauer betrachtet, so wird man auch bemerken, daß die Kolonien am Ringumfang völlig einseitig ausgebildet erscheinen,³ was meiner Meinung nach darin seine Erklärung findet, daß alle jene Diatomeen, die sich mit Rücksicht auf die normale Zwickelform der Kolonie gegen die Hellermünze hätten verschieben sollen, abgestorben sind, während die von der Gegenseite, weil in unvergiftetem Gebiet, sich üppig weiter entwickeln und reichlich Nachkommen erzeugen konnten. Die Kolonien machten daher im Mikroskop jenen Eindruck, wie wir ihn bei bloß in der Windrichtung mit Ästen versehenen Stämmen bekommen.

Diese Versuche beweisen, daß sich die *Nitzschia putrida* Benecke ebensowenig der oligodynamischen Wirkung von Metallen zu entziehen vermag wie die *Nitzschia Palea* Kütz.

Doch dürfte aus dem Gesagten hervorgegangen sein, daß auch, was die Widerstandsfähigkeit gegen Gifte anlangt, die *Nitzschia putrida* sich als besser ausgerüstet erwiesen hat als ihre verwandte braune Süßwasserform.

¹ Oswald Richter, I, l. c., p. [84] 58.

² Siehe Kapitel XVIII, p. 90 [746].

³ Siehe Kapitel XX (1), p. 105 [761].

X. Ausscheidungen der *Nitzschia putrida* Benecke.

1. Versuche über die Ausscheidung von Fermenten.

a) Ausscheidung eines proteolytischen Enzyms.

Wie noch in einem späteren Kapitel weiter ausgeführt wird,¹ vermag die *Nitzschia putrida* ähnlich wie ihre reinkultivierten braunen Verwandten² des Süßwassers Gelatine zu verflüssigen (vgl. Photographie Fig. 3, 5 und 6, Taf. II), was schon an und für sich nach den landläufigen bakteriologischen Auffassungen das Vorhandensein eines proteolytischen Enzyms beweist. Immerhin wollte ich noch mit der Eijkman-Hastings'schen Agarmethode einen Beweis mehr bringen, eine nicht vergebliche Mühe, wie der Erfolg bewies.

Der erste diesbezügliche Versuch wurde am 7. April begonnen. In Verwendung kamen drei Sorten von Nähragar:

1. 2% CINA M S A.: 4 Schalen und 3 Eprouvetten,
2. Triest. Meerw. P D A.: 4 Schalen und
3. Triest. Meerw. P Gl. A.: 2 Schalen.

Der Milchzusatz wurde so gewählt, daß ein rund 10% Milchagar entstand. Die verwendete Milch war nicht abgerahmt. Zur Kontrolle wurden noch 2 Schalen Triest. Meerw. P D A. ohne Milchzusatz geimpft: 4.

Am 10. April, 9^h früh, somit nach rund bloß 65 Stunden, sah man bei

1 in einer Schale, entsprechend den in Kreuzform gezogenen Impfstrichen, ein deutliches helles Kreuz, in drei Schalen um die Impfmasse deutliche helle Zonen; in

2 und 3 wohl reichliche Diatomeenentwicklung, aber keine hellen Zonen um die Diatomeenmassen. Es machte den Eindruck, als ob die Diatomee deshalb, weil ihr das Pepton, das gelöste Eiweißderivat, in so reichlicher Menge zur Verfügung stand, auf die Aufnahme des Milcheiweißes verzichtete.

In 4 endlich war prächtige Entwicklung zu sehen.

In den Eprouvetten war die Entwicklung auch vorzüglich vor sich gegangen, doch offenbar wegen der Dicke der Schichte eine Auflösung des Kaseins nicht zu sehen.

Der 13. April brachte nun insofern eine außergewöhnliche Überraschung, als sich bei der mikroskopischen Untersuchung der in prächtigster Entwicklung begriffenen Schalenkulturen des 2% CINA M S A. herausstellte, daß die Diatomeen zu massenhafter Plasmodienbildung geschritten waren, während bei den Kontrollkulturen aber auch nicht eine Spur dergleichen zu sehen war. Davon wird später³ ausführlich die Rede sein. Da bisher in 2 und 3 noch keine Spur der in 1 doch zweifellos nachgewiesenen Fermentwirkung zu sehen war, schien die Annahme von dem Vorhandensein eines »Wahlvermögens« begründet.

Am 23. April hatten nun auch die Schalenkulturen von 2 und 3 ihre hellen Ringzonen. In 1 erschienen die aufgehellten Partien natürlich um ein Vielfaches breiter, waren aber auch breiter als am 13. April. Die mikroskopische Untersuchung ergab in allen untersuchten Schalen von 1 Plasmodienbildung, in zwei Schalen gingen sogar ganze Kolonien in Plasmodien über. Dagegen sah man in 2 und 3 keine Spur von Plasmodienbildungen. Es braucht wohl kaum betont zu werden, daß die Vitalfärbung mit Neutralrot⁴ auch hier wieder zur Vergewisserung, daß die sonderbaren amöbenartigen Gebilde den Diatomeen angehörten, herangezogen wurde.

¹ Siehe Kapitel XX (5), p. 108 [764].

² Oswald Richter, I, p. 64 [90]; vgl. hier auch die einschlägige Literatur.

³ Vgl. Kapitel XIX, p. 101 [757].

⁴ Vgl. Kapitel XVIII, p. 88 [744].

Tabelle 4. Über die Ausscheidung eines proteolytischen Enzymes durch die *Nitzschia putrida* Benecke.

Tag der Beobachtung	Impfung mit der »farblosen Diatomee« vom 1. November etc.		Impfung der Milchplasmoidien vom Versuch vom 7. April, p. 39 [695]		Impfung der »farblosen Diatomee« vom 1. November etc., auf		Impfung der Milchplasmoidien vom Versuch vom 7. April, p. 39 [695] auf		Impfung der »farblosen Diatomee« vom Auxanogr. vers. ²		Impfung mit der »farblosen Diatomee« von Nr. 4, dunkel, kein Wasserschutz des Lichtversuches vom 8. April 1908 p. 50 [706]		Impfung des Plasmoidenmaterials vom 20/0 C1Na.M.S.A. mit Milchzusatz, p. 39 [695]	
	Vollmilch filtriert	Magermilch nicht filtriert	Vollmilch filtriert	Magermilch nicht filtriert	P D Triest. Meer- wasser + Volm.	20/0 C1Na M.S.A.	Triest. Meer- wasser P D ohne Milch	20/0 C1Na M.S.A.	Kasein	Milch- zucker	20/0 C1Na M.S.A. 0·50/0 P, 0·50/0 D	Kasein	Milch- zucker	20/0 C1Na M.S.A. P D
28. April.														
30. »														
29. Mai														

Breite der aufgehellen Zone in Millimetern diesseits und jenseits des Impfschnittes zusammengekommen:

30. April	8	8	5	7	8·5	8	8	8·5	2	3	3	2	8	9	7	5	3	∅
30. »		<i>Pl</i>		<i>Pl</i>	<i>Pl</i>													
29. Mai	<i>Pl</i>	<i>Pl</i>	<i>Pl</i>	<i>Pl</i>		<i>Pl</i>	<i>Pl</i>											

Geschichte des Impfmateri als: 1. November → 8. November → 21. Dezember 1907 → 25. Februar → 7. April → 25. April 1908. *Pl* = Plasmoidien.
 1 Regeneriert. Siehe Kapitel XIX., p. 96 [752].
 2 Siehe Kapitel VIII, p. 36 [692].

Am 24. April wurde ein neuer Versuch eingeleitet, der gewissermaßen eine mit diesem neu rein gewonnenen Organismus, der *Nitzschia putrida*, durchgeführte Überprüfung des Hastings'schen Milchagarrezeptes darstellt, gleichzeitig aber auch feststellen sollte, welcher Stoff der Milch für die Plasmodienbildung verantwortlich zu machen sei, da ein sicheres Rezept für die Gewinnung der Plasmodien für weitere Versuche über die Aufklärung ihrer eigentlichen Natur daran hätte geknüpft werden können.

Für die Wahl der Gewichtsmengen an Kasein und Milchzucker war mir die von Dammer¹ angeführte Analyse der Kuhmilch maßgebend, nach der 100 Teile Kuhmilch 54·04 Käsestoff und 40·37 Zucker enthalten. Es sei noch erwähnt, daß die Milch nach dem ersten Aufkochen für einen Teil der Eprouvetten filtriert, für den anderen unfiltriert in Anwendung kam.

Somit stellte sich die Zusammensetzung des Versuches wie folgt:

- I. 2% ClNaMSA. mit Fettmilch $\left\{ \begin{array}{l} 1. \text{ filtriert,} \\ 2. \text{ nicht filtriert.} \end{array} \right.$
- II. 2% ClNaMSA. mit Magermilch $\left\{ \begin{array}{l} 1. \text{ filtriert,} \\ 2. \text{ nicht filtriert.} \end{array} \right.$
- III. 2% ClNaMSA. mit 0·5% Pepton und 0·5% Dextrin als Zusatz.
- IV. 2% ClNaMSA. mit 0·54% Kasein.
- V. 2% ClNaMSA. mit 0·4% Milchzucker.

Vergleicht man die Tabelle 4, so wird man finden:

1. Die noch relativ hochstehende Diatomeenform der *Nitzschia putrida*, die Var. *lata*, wächst viel rascher als das »Plasmodienmaterial« und jene Variationsgestalten, die eben an der Grenze der Plasmodienbildung stehen. Als Folge dieser rascheren Entwicklung tritt eine vermehrte Fermentbildung auf, die eine raschere Auflösung des Milchcaseins zur Folge hat.

2. In Übereinstimmung mit Hastings' Erfahrungen an Bakterien ist Magermilch der fetten Vollmilch für unsere Experimente vorzuziehen.

3. Zu einer Zeit, wo bei Verwendung von 2% ClNaMSA.+Milch schon eine ausgiebige Lösung des Milchcaseins zu sehen war, war bei dem entsprechenden Versuche mit Triest. Meerw. PDA. entweder keine oder eben die erste Andeutung einer Fermentwirkung zu beobachten. Diese Versuche ließen die Interpretation zu, daß den Diatomeen eine Art Wahlvermögen zukommt, das sich darin bekunden würde, daß sie, im Falle ihnen leichter assimilierbare organische Verbindungen zur Verfügung ständen zuerst diese und erst, wenn diese verbraucht wären, minder geeignete sich nutzbar machen würden. Ein neuer Versuch nach dieser Richtung vom 3. Mai 1903 mit frisch hergestelltem Triest. Meerw. PD- und 2% ClNaMSA. hat diese Ansicht bestätigt, indem bereits am 5. Mai wohl im 2% ClNaMSA. mit Milchzusatz das Milchcasein gelöst war, während sich in den Kontrollschalen noch keine Kaseinlösung zeigte. Am 6. Mai wurde die MS-Kultur von den PD-Diatomeen schon eingeholt, so daß der Unterschied nicht so lange nachhielt wie in dem in Tabelle 4 wiedergegebenen Versuche. Das bei dem »Tabellenversuche« verwendete Agar war etwa zwei bis drei Monate alt und konnte auch durch seine größere Konsistenz der Diffusion und Ausbreitung des Fermentes Schwierigkeiten bereitet und so die besonders auffallenden und tagelang feststellbaren Unterschiede bedingt haben.

4. Das käufliche Kasein erscheint für die Diatomee als Gift. Diese Erfahrung, daß käufliche Eiweißkörper, selbst als purissimum gekauft, auf empfindliche Pflanzenzellen giftig wirken, ist keineswegs neu.

¹ Dammer O. und Rung F., Chemisches Handwörterbuch. 1892. Union, Deutsche Verlagsgesellschaft, Stuttgart, Berlin, Leipzig, p. 406.

So ergab sich bei den Untersuchungen von Lidforss¹ »Über den Chemotropismus der Pollenschläuche«, daß selbst die besten für chemische Analysen reinsten Diastase- und Albuminpräparate wegen ihrer Giftwirkung unbrauchbar waren. Das erklärt sich daraus, daß dem Experimentator der Einblick in die Darstellungsweise des Präparates durch die Fabrik fehlt, so daß er unbewußt Spuren von Säuren u. dgl. mit dem Eiweißpräparat zum Experiment verwendet und so die Kulturobjekte vergiftet.

5. In Übereinstimmung mit älteren Erfahrungen² über die Ernährung sehen wir die farblose Diatomee in Mz A.³ trefflich fortkommen. Es ist damit wieder gezeigt, daß sie bei passender C-Quelle mit dem N in der Nitratform als N-Quelle völlig auskommt.

6. Die abgemessenen Breiten der Lösungszonen erreichten im MSA. schon nach zwei Tagen die auffallende Größe von 8 mm, die in der Folge noch bedeutend zunahm.

7. Die mikroskopische Untersuchung stellte fest, daß im 2% ClNa MSA. mit Milchzusatz bei der Impfung der Var. *lata* nach acht Tagen Plasmodienbildung eintrat, während im Kontrollagar Triest. Meerw. PD. mit und ohne Milch keine Spur einer Plasmodienbildung zu sehen war. Eine besondere Betonung verdient die Tatsache, daß auf dem 2% ClNa MSA. mit 0·5% Pepton- und 0·5% Dextrinzusatz bei der Impfung der Plasmodien des Milchagarversuches vom 7. April am 23. Mai überaus reichliche und große Plasmodien zu sehen waren. So kamen wieder jene Bilder der Umwandlung ganzer Kolonien in Plasmodien zustande, die in Fig. 24, Taf. IV als das Produkt einer allmählichen Veränderung durch systematische Überimpfung auf Kulturschalen stets eines Substrates von unveränderter Zusammensetzung dargestellt wurden.

War es damals »Altersschwäche«, so war es diesmal die Wahl des Substrates, die die abnormen Veränderungen der Diatomee hervorrief.

Die eben besprochenen, bei Anwendung hauptsächlich von 2% ClNa MS-Milchagar gewonnenen Plasmodienbildungen erzeugten den Wunsch, durch Kombination mit anderen Faktoren die Plasmodien-erzeugung noch sicherer in die Hand zu bekommen. Es wurde also jener Versuch durchgeführt, der in dem II. Kapitel, p. 11 [667] beschrieben, als Versuch VII in die Tabelle I eingetragen wurde und dessen Ergebnisse daselbst graphisch dargestellt sind. Hier interessieren uns nur jene Resultate, die er über die Auflösung der Milch ergab, also die des II. Teilversuches, weil sie uns über das Vorhandensein und die Leistungsfähigkeit des Fermentes einen weitgehenden Aufschluß zu geben vermögen.

Schon die erste Untersuchung vom 18. Mai zeigte, daß in allen Schalen ohne Unterschied unabhängig vom Kochsalzgehalte des Substrates, also auch in der ClNa-freien Schale eine Auflösung des Kaseins um die Impfmasse stattgefunden hatte. Dort, wo Entwicklung zu sehen war, also von 0·3% ClNa aufwärts, war die Auflösung natürlich auch um die Impfstiche zu bemerken.

Dieses zunächst überraschende Ergebnis findet seine Erklärung entweder darin, daß das mit der Impfmasse eingebrachte Stückchen Triest. Meerw. PDA. zwar nicht zur Entwicklung der Diatomeen, wohl aber so weit ausgereicht hat, sie noch einige Tage am Leben zu erhalten, wodurch sie in den Stand gesetzt wurden, fermentativ tätig zu sein, oder aber darin, daß das Ferment trotz des Absterbens der Diatomeen noch zu wirken imstande ist. Die am 31. Mai 1908 durchgeführte mit Plasmolyse durch 10% ClNa verbundene mikroskopische Untersuchung stellte jedenfalls den sicheren Tod der Diatomeen fest.

Es wurden in der Folge noch etliche Versuche über das Vorhandensein eines eiweißlösenden Fermentes mit 2% ClNa MSA. ausgeführt, alle mit demselben positiven Erfolge. Dagegen mißglückte ein Experiment, durch Zerreiben der Diatomeen mit Sand in Triest. Meerw. das Ferment zu isolieren, völlig, offenbar wegen der doch zu geringen Menge des isolierten Stoffes.

¹ Lidforss Bengt, Über den Chemotropismus der Pollenschläuche. (Vorl. Mitt.) Ber. d. d. b. G., Bd. XVII, 1899, p. 240.

² Vgl. das Kapitel III, p. 19 [675].

³ Vgl. das Kapitel VI, p. 29 [685].

Es sei daher nur noch zum Schlusse auf die Photographie Fig. 14, Taf. III hingewiesen, die, vor dunklem Hintergrund aufgenommen, in unzweideutiger Weise zeigt, daß die farblose Diatomee *Nitzschia putrida* tatsächlich ein gelatine- i. e. eiweißlösendes Ferment besitzt, dessen Nachweis nicht nur durch die vielfach beobachtete Gelatineverflüssigung, sondern auch mit dem Eijkmann-Hastings'schen Magermilchagar gelingt.

b) Ausscheidung eines agarlösenden Fermentes.

Da sich bei der Kultur der braunen Süßwasserdiatomeen¹ herausgestellt hatte, daß sie imstande sind, Agar zu lösen, wurden auch mit der farblosen Diatomee *Nitzschia putrida* entsprechende Versuche gemacht, die gleichfalls zu positiven Resultaten führten. Die Versuchsanstellung ist einfach die folgende: Man gießt Plattenkulturen und wartet die Koloniebildung ab, nach etwa 7 Tagen sind die Kolonien so weit herangewachsen, daß sie einen dichten zentralen Kern und eine lichtere periphere Zone, diese auf der Oberfläche des Agars gebildet haben. Von jetzt ab kann man das allmähliche Einsinken der Kolonien in das Agar und dessen Ausgefressenwerden beobachten, bis schließlich die ganze Platte den mehr minder korrodierten Charakter einer tief eingeschnittenen Hügellandschaft trägt. In der Art glückt auch bei den Süßwasserformen der Nachweis des agarlösenden Fermentes am besten, während Agar-Stich- und Agar-Strichkulturen dazu weniger geeignet sind. Das hängt offenbar mit der Dicke der anzugreifenden Schichte, vielleicht auch mit einem Herabfließen der wirksamen Substanz zusammen.

Die Erscheinung deutet mir vergleichbar mit dem Nachweis des eiweißlösenden Fermentes nach Eijkmann und Hastings, wo man gleichfalls am zweckmäßigsten Platten gießt und nicht Eprouvetten verwendet, wenn man die Auflösung schön demonstrieren will.

Sprechende Beweise für die Auflösung und die Verwertbarkeit des Agars zum Aufbaue des Körpers der farblosen Diatomee gaben auch der in dem Kapitel II, p. 11 [667] angeführte Teilversuch III des dort beschriebenen großen ClNa-Versuches sowie gewisse Erfahrungen des III. Kapitels.

Wie aus dem Kapitel III über die organische Ernährung der farblosen Diatomee hervorgeht, ist sie Saprophyt. Dennoch gedieh sie auf einem sogenannten MSA., also einem Agar ohne jeden organischen Zusatz ganz gut, wenn auch nicht in den normalen Gestalten (siehe p. 20 [676]).

Der Stickstoff war als Nitrat geboten. Als Kohlenstoffquelle konnte, da in dem Versuche über die Kohlenstoffernährung in C-freier Nährlösung keine Entwicklung stattgefunden hatte², die Diatomeen also nicht wie gewisse Bakterien³ mit dem C des CO der Laboratoriumsluft das Auslangen finden, nur das Agar in Betracht kommen, wenn nicht jene Spuren von Pepton und Dextrin, die mit der Impfmasse eindringen, zur Entwicklung ausreichen.

Damit wäre aber dessen Assimilierbarkeit und indirekt seine Auflösbarkeit erwiesen und wieder ein Beispiel mehr für das Wahlvermögen der farblosen Diatomee gebracht, die erst dann das Agar zu verzehren beginnt, wenn es ihr an einer geeigneteren C-Quelle mangelt.

Endlich mag noch als weiterer Beleg für die Auflösbarkeit des Agars der ausgesprochenen Auflösungsfurche gedacht sein, die man mit der *Varietas longa* und *nanella* am Beginne der Reinzucht erhält, wenn sie noch ihr Bewegungsvermögen besitzen⁴ und Raum genug haben, in den Schalen herumzukriechen, eine Erscheinung, die bereits von den braunen Süßwasserdiatomeen her bekannt ist.⁵

¹ Richter Oswald, II, p. 502 u. I, p. [92] 66.

² Siehe Kapitel III, p. 20 [676].

³ Beijerinck M. W. und van Delden: Über eine farblose Bakterie etc., I. c.
Kaserer H.: Die Oxydation des Wasserstoffes etc., I. c.

⁴ Siehe Kapitel XIV, p. 76 [732].

⁵ Richter Oswald, II, I. c., p. 502.

c) Ausscheidung eines kieselsäurelösenden Fermentes.

Nur in aller Kürze mag hier auf eine Tatsache hingewiesen werden, die erst bei der Besprechung der künstlichen Darstellung der Diatomeen-Plasmodien¹ eingehend behandelt werden soll. Es zeigte sich nämlich, daß die Diatomeenschalen bei der Zucht der farblosen Diatomee auf Na-armem M S A., wie Versuchsversuche zweifellos erwiesen haben, aufgelöst werden.² Es ist daher die Annahme nicht von der Hand zu weisen, daß das Plasma ein die Kieselschale lösendes Ferment besitzt.

d) Ausscheidung von Giftstoffen für Pilze. (?)

Es ist nicht ohne Interesse, daß Pilze, die in Petrischalen mit Milchagar als Verunreinigungen eingeflogen sind, den von den Diatomeen aufgehellten Zonen auszuweichen scheinen. Diese Erscheinung läßt sich natürlich zunächst so interpretieren, daß der Pilz aus Nahrungsmangel die betreffenden Stellen vermieden habe, doch wäre auch noch denkbar, daß die Diatomee unter diesen Verhältnissen eine den Pilz schädigende Substanz ausscheidet und sich derart gewissermaßen gegen seine Übergriffe immunisiert.

2. Versuche über die Ausscheidung von Alkali.

Die Annahme, daß die farblose *Nitzschia* auch Alkali ausscheide, stützt sich hauptsächlich auf einen³ interessanten Versuch, der über ihr Verhalten zu Di- und Monokaliumphosphat angestellt worden ist und bei dem sich zeigte, daß zwar die erste und die Maximalentwicklung auf dem Dikaliumphosphat stattfand, daß aber allmählich auch auf dem Monokaliumphosphat ein schwaches Aufkommen der Diatomee zu bemerken war. Da die Folgerungen, die sich aus diesem Befunde ergeben, bereits in Kapitel V auseinandergesetzt sind, sei auf diese Stelle verwiesen und hier nur der Schlußsatz festgehalten, daß der angeführte Versuch dafür spricht, daß unsere Diatomee auch Spuren von Alkali auszuschcheiden vermag.

¹ Siehe Kapitel XIX, p. 101 [757].

² Siehe Kapitel XVI, p. 83 [739].

³ Siehe Kapitel V, p. 25 [681], Tabelle 2.

XI. Der Einfluß der Temperatur auf die *Nitzschia putrida* Benecke.

Eine der interessantesten Entdeckungen war die Feststellung der großen Widerstandsfähigkeit gewisser Pflanzenzellen oder gewisser Dauerzustände von Pflanzen gegen sehr hohe und sehr niedere Temperaturen.¹

Die neuesten Mitteilungen von Miede² haben uns nun auch belehrt, daß die Zahl der Mikroorganismen aus der Gruppe der Bakterien und Hyphomyzeten, die sich bei Temperaturen, die hoch über der Durchschnittstemperatur des Lebens liegen, geradezu am allerwohlsten fühlen, nicht einmal so gering ist. Den Einfluß höherer Temperaturgrade auf braune Diatomeen untersuchte Miquel,³ der fand, daß einige Arten noch 42° C aushalten, ohne abzusterben.

Den Anstoß zu meinen Versuchen über den Einfluß der Temperatur auf die rein gezüchtete farblose Diatomee gaben aber eigentlich die im pflanzenphysiologischen Institute unter Molisch's Leitung durchgeführten Untersuchungen von Löwenstein⁴ an der Thermalalge *Mastigocladus*.

Löwenstein hatte nachgewiesen, daß diese Alge eine konstant wirkende Temperatur von noch 51° C ohne Schädigung aushält, und seine Gegenversuche mit niederen Temperaturgraden ließen erkennen, daß das Plasma dieser Blaualge auch noch — 19·3° auszuhalten vermochte, ohne abzusterben.

Analog zu Löwensteins Experimenten gliederten sich meine eben zu beschreibenden Versuche über die *Nitzschia putrida* in zwei Gruppen: 1. Versuche über den Einfluß höherer und 2. solche über die Wirkung niederer Temperaturgrade auf die farblose Diatomee. Alle diese Experimente wurden im Februar 1907 ausgeführt.

1. Versuche über den Einfluß höherer Temperaturgrade.

In einem Zimmer, dessen Temperatur im Winter zwischen 9 bis 10° C konstant bleibt, wurden zwei Dunkelthermostaten aufgestellt, von denen der eine bei konstant 20° C, der zweite bei konstant 30° C gehalten wurde. Es kamen daher bei den diesbezüglichen Experimenten stets drei Versuchskolonnen in Betracht, eine bei 10°, eine bei 20° und eine bei 30° C. Als Nährboden benutzte ich bei allen derartigen Versuchen Triest. Meerw. P. D. A. Gelatine war wegen der Verflüssigung bei höherer Temperatur unverwendbar gewesen. Als Kulturgefäße kamen Petrischalen in Verwendung, die zum Schutze vor Vertrocknung in feuchten Kammern standen, wobei die unterste mittels Vogelgläschens über das abschließende Wasser der Kammer gehoben wurde. Die Art der Impfung war stets die Ausgußplatte.

Unter Verzicht auf genauere Details sei hier gleich das Resultat wiedergegeben, wie es sich aus einer Reihe solcher Experimente herausstellte:

In allen Schalen ohne Unterschied fand Entwicklung statt. Zuerst tauchten die Kolonien bei 30 und 20° C. auf, nach etwa 8 bis 10 Tagen die bei 10° C.

Das Optimum der Entwicklung liegt bei sommerlicher Zimmertemperatur bei rund 25° C. Treibt man die Erhitzung des Thermostaten noch höher, etwa über 38° hinauf und versucht bei konstanter Einwirkung dieser Temperatur die farblosen Diatomeen zu halten, so gehen sie ausnahmslos zugrunde.

¹ Pfeffer W., Pflanzenphysiologie, II. Bd., Leipzig 1904, Verl. v. W. Engelmann, p. 291.

² Miede H., Die Selbsterhitzung des Heues. Eine biologische Studie. Jena 1907, Verlag v. G. Fischer.

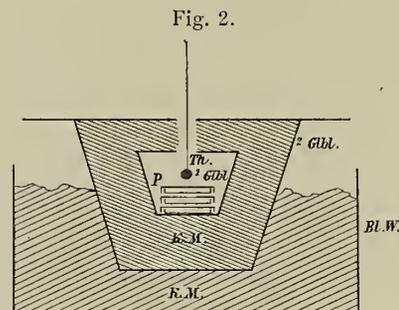
³ Miquel P., Recherches expérimentales sur la physiologie, la morphologie et la pathologie des diatomées. Annales de Micrographie, Mars 1892, p. 3. Action de la chaleur humide sur les Diatomées.

⁴ Löwenstein A., Über die Temperaturgrenzen des Lebens bei der Thermalalge *Mastigocladus laminosus* Cohn, B. d. d. b. G., 1903, Bd. XXI, H. 6, p. 317.

Untersuchte man die *Nitzschia putrida* von 10°, 20° und 30° C. mikroskopisch, so konnte man keine wesentlichen Unterschiede zwischen den Diatomeen der drei Temperaturgrade feststellen. Alle waren regelmäßig ausgebildet, gesund und plasmolysierbar,¹ Zerrformen traten in der Zeit, während welcher diese Versuche währten, nicht auf.

2. Versuche über den Einfluß niederer Temperaturgrade.

Die Gefrierversuche wurden in der Weise angestellt, daß die Diatomeen in Petrischalen in einen Glasblumentopf mit Deckel gegeben wurden, der seinerseits wieder in eine Mischung von Schnee und Kochsalz oder in eine von Kochsalz mit Salmiak und Schnee gegeben wurde, die in einem größeren derartigen Glasblumentopf untergebracht war. Damit nun auch dieser möglichst vor der Wärmestrahlung der Umgebung geschützt sei, wurde er wieder in eine Blechwanne mit der gleichen Kältemischung versenkt. Ein noch Zehntelgrade zeigendes Thermometer reichte mit seiner Kugel bis zu den Schalen, ein anderes war neben dem Versuche zur Kontrolle aufgehängt. Die folgende Skizze (Fig. 2) mag die Versuchsanordnung illustrieren:



Versuchsanstellung bei den Experimenten über den Einfluß niederer Temperaturgrade.

- | | |
|--|--|
| P. = Petrischalen. | 2. Gbl. = zweiter (großer) Glasblumentopf. |
| Th. = Thermometer. | Bl. W. = Blechwanne. |
| 1. Gbl. = erster (kleiner) Glasblumentopf. | K. M. = Kältemischung. |

Einige Protokolle werden in den Versuchsverlauf den besten Einblick geben.

I. Gefrierversuch mit Kochsalz und Schnee vom 9. Februar 1907 10^h 30^m a. m. bis 11. Februar 9^h a. m. mit *Var. longa* und *nanella* (abgelesene tiefste Temperatur -10.6°).

Am 9. Februar 11^h 15^m wurden die ersten Diatomeenproben des *Var. nanella*-Materials untersucht. Die Agarscheiben waren mit Eiskristallen völlig durchsetzt und beinhart gefroren. Die entnommene Probe taute im Zimmer rasch auf; sie wurde mit Neutralrot und mit 10 % ClNa-Lösung behandelt. Es trat Vitalfärbung und Plasmolyse ein (Fig 16, Taf. IV). Die Schale wurde neuerlich zurückgestellt und abermals frieren gelassen.

Um 11^h 45^m entnahm ich nun einer *Var. longa*-Schale eine Probe, die bei der gleichen Behandlung wie die *Var. nanella* das gleiche Verhalten zeigte. Die *Var. longa* war also auch am Leben geblieben (Fig. 15, Taf. IV). Um 12^h stellte ich die *Var. longa*-Schale wieder in den improvisierten Gefrierapparat zurück, worauf der Versuch noch bis 11. Februar 9^h früh bei steigender Temperatur belassen wurde. Die mikroskopische Untersuchung am Versuchsschlusse ergab, daß das gesamte untersuchte Diatomeenmaterial der *Var. longa* und *nanella* lebte.

II. Gefrierversuch vom 15. Februar 12^h Mittag bis 16. Februar 8^h 15^m a. m.

Kältemischung: Kochsalz—Salmiak—Schnee.

Versuchsmaterial: *Var. longa* und *nanella* auf Agarstückchen in Glasdöschen eingetragen und nachher in den Gefrierapparat versenkt.

Tiefste abgelesene Temperatur: -11.4° .

Das Resultat der mikroskopischen Untersuchung lautete dahin, daß, abgesehen von jenem Schälchen, in das von außen Tauwasser eingedrungen war, in allen Schälchen die Diatomeen am Leben waren.

¹ Vgl. auch die Anwendung der Plasmolyse zur Feststellung des Lebens der farblosen Kieselschaler bei Ben ecke W., I, I. c., p. 554.

Da nach der Probeentnahme immer noch lebendes Material genug übrig war, übertrug ich die Schälchen nun auch noch in die Seite 45 [701] erwähnten Thermostaten in das Zimmer von 10° C und ließ sie bei 30°, 20°, beziehungsweise 10° zwei Stunden stehen. Bei der nun folgenden neuerlichen Untersuchung lebten die widerstandsfähigen farblosen Kieselschaler noch immer, so daß sie also einen Temperatursprung von 41° C (von — 11° bis + 30° C) innerhalb 21 Stunden ausgehalten hatten, ohne abzusterben. Dieser Befund reiht sich somit passend an die von Josing¹ gemachten Beobachtungen über die Widerstandsfähigkeit des strömenden Plasmas gegen Temperatursprünge an.

Die Versuche über den Einfluß verschiedener Temperaturgrade hatten somit ergeben, daß die rein kultivierte farblose Diatomee durch 24 und mehr Stunden eine niedere Temperatur bis — 10° und — 11° ohne merkliche Schädigung auszuhalten vermag. Auf der anderen Seite ist dieser Organismus auch imstande, verhältnismäßig hohe Temperaturgrade (+ 30°) stunden-, ja wochenlang ohne Schwierigkeit zu ertragen. Bei 30° vermögen die farblosen Diatomeen noch zu wachsen, wenn sie sich auch nicht mehr so reichlich vermehren als bei 20° bis 25° C. Das Optimum für ihre Entwicklung liegt bei der sommerlichen Zimmertemperatur, also rund 24° bis 25° C.² Bei dieser Temperatur erhält man binnen 48 Stunden in Ausgußplatten ganz stattliche Kolonien, auf Strichkulturen prächtige Striche. Bei 10° C erscheint das Wachstum bereits ungemein verzögert. Von besonderem Interesse ist die Fähigkeit, große Temperatursprünge ohne Schaden auszuhalten. Dieses Verhalten gegen Temperatureinflüsse scheint nicht zum geringsten in einer weitgehenden Anpassung an den natürlichen Standort begründet zu sein, an dem ja auch nach den Jahresablesungen³ die Grenztemperaturen sehr weit voneinander liegen und an dem gar nicht selten Temperatursprünge verzeichnet wurden, die den im Experimente angewendeten nahekommen.

Wie die Experimente über den Einfluß des Lichtes⁴ dargetan haben, kann die farblose Diatomee auf ganz kurze Zeit sogar 38° C überdauern. Ob und inwieweit die strahlende Wärme allein und in Verbindung mit der strahlenden Energie des Lichtes schädlich auf die *Nitzschia putrida* wirkt, mag in dem einschlägigen Kapitel⁵ nachgesehen werden.

Es soll nun nur noch darauf hingewiesen sein, daß die obere Grenze des Lebens bei unserem Versuchsobjekt entsprechend seiner Lebensweise im kühlen Meere doch eigentlich verhältnismäßig tief, um 38° C herum liegt, also nicht die Durchschnittshöhe von 45° C erreicht und sich in der Art sehr ähnlich verhält wie die gleichfalls von Organismen des Meeres rein gezüchteten Leuchtbakterien⁶ und das von Molisch besonders studierte *Bacterium phosphoreum* (Cohn) Molisch.⁷

¹ Josing Eug.: Der Einfluß der Außenbedingungen auf die Abhängigkeit der Protoplasmaströmung vom Licht. Pringsh. Jb. f. w. B., 36. Bd., 1901, p. 215.

² Auch Benecke W., I (l. c., p. 563) empfiehlt niedere Temperaturen, freilich nur, um die Konkurrenz der Bakterien minder gefährlich zu machen.

³ Merz A.: Vorläufiger Bericht über die physikalisch-geographischen Untersuchungen im Golf von Triest. Jahresb. d. V. z. F. d. n. Erforsch. der Adria, 1905, p. 30.

⁴ Siehe Kapitel XII, p. 51 [707].

⁵ Siehe Kapitel XII, p. 51 [707] und Tabelle 5, p. 50 [706].

⁶ Molisch H.: Die Leuchtbakterien aus dem Hafen von Triest, l. c.

⁷ Molisch H.: Das Leuchten des Fleisches, l. c., und Molisch H., Leuchtende Pflanzen, l. c., p. 92 (!).

XII. Der Einfluß des Lichtes auf die *Nitzschia putrida* Benecke.

Die Ergebnisse der Untersuchungen über den Einfluß des Lichtes auf die reingezüchteten braunen Süßwasserdiatomeen¹ veranlaßte mich schon kurz nach der Gewinnung der ersten Reinzucht der *Nitzschia putrida* im April 1906, auch mit ihr Experimente nach dieser Richtung durchzuführen, die unzweifelhaft feststellten, »daß die farblose *Nitzschia* im Dunkeln wie im Lichte wächst«²; doch »schien das Licht hemmend auf ihre Entwicklung einzuwirken«².

Mit seinen Rohkulturen farbloser Nitzschien hat bereits Benecke³ orientierende Versuche über den Einfluß des Lichtes auf diese Organismen gemacht und man sollte doch denken, daß der Einfluß des genannten Faktors, abgesehen natürlich von der Speziesfrage, auch ohne Reinkulturen zu lösen gewesen sein müßte. Liest man aber die betreffende Stelle in Benecke's wertvoller Arbeit, so merkt man, daß selbst bei der beobachteten Hemmung der Entwicklung im Lichte nicht gesagt werden konnte, ob diese Hemmung wirklich durch das Licht oder erst indirekt durch die vom Lichte in der Konkurrenz mit den weißen Diatomeen geförderten braunen und durch die auch massenhaft auftretenden Grünalgen hervorgerufen worden sei. Somit war zurzeit auch über den Einfluß des Lichtes auf unsere Diatomee nichts Genaueres bekannt.

Da die Novembertage des Jahres 1906 durch außergewöhnliche Lichtfülle und relativ starken Sonnenschein ausgezeichnet waren, wurden noch in dieser späten Jahreszeit einige neue Versuche über den Lichteinfluß durchgeführt, und zwar derart, daß die dem Lichte auszusetzenden Eprouvetten am Fenster aufgehängt wurden, während die Kontrollgläschen auf einem Arbeitstische nächst dem Fenster unter Dunkelsturz stehen blieben. In Verwendung kamen Stich- und Strichkulturen von Triest. Meerw. PDGel. und Strichkulturen eines analog zusammengesetzten Agars.

Der Gelatineversuch wurde am 18. November, ein erster Agarversuch am 19. November und ein zweiter am 22. November geimpft. Die Lichteprouvetten blieben während der ganzen Versuchsdauer am Fenster.

Das Ergebnis findet sich in der umstehenden Tabelle 5. Es würde dahin lauten, daß das starke Licht einen ausgeprägt schädigenden Einfluß auf die Diatomee ausübt, wobei noch nicht gesagt wäre, ob es die Licht- oder die Wärmestrahlen sind, die die Zerstörung des Diatomeenplasmas zur Folge hatten. Nun läßt sich aber gegen die beschriebene Versuchsanstellung, abgesehen von dem eben angedeuteten Mangel der bestehenbleibenden Unklarheit darüber, ob die Wärme- oder die Lichtstrahlen die wirksamen sind, noch ein anderer wesentlicher Einwand machen. Die an den Fenstern hängenden Diatomeen mußten insbesondere in der Nacht einer weit niedrigeren Temperatur ausgesetzt sein, als die unter Dunkelsturz am Tische stehenden Kulturen und konnten deshalb vielleicht nicht aufgekommen sein.

Im Jahre 1907 experimentierte ich zunächst in den Frühlingsmonaten vor Nordfenstern mit den schon bei den braunen Diatomeen benutzten Blechbüchsen.⁴ Später kam ich erst am 21. Dezember dazu, wieder einen Versuch über den Einfluß des Lichtes durchzuführen. Als Nährmedium benutzte ich Gelatine, und zwar je 3 Stich- und je 3 Strichkulturen für Licht und Dunkel. Nach fünf Tagen sah man schon, gleichgültig ob die Eprouvetten am Fenster im Lichte hingen oder am Fenster unter Dunkelsturz standen, in allen die beginnende Entwicklung und bald waren alle Eprouvetten ohne Unterschied mit Diatomeenmassen übersät. Der derart negativ ausgefallene Versuch hatte aber das eine zweifellos gelehrt, daß das Licht der Wintertage für solche Versuche viel zu schwach ist.

¹ Richter Oswald, I, 1. c., p. 68 [94].

² Richter Oswald, III, 1. c., p. 280.

³ Benecke W., I, 1. c., p. 562 u. 563.

⁴ Richter Oswald, I, 1. c., p. 74 [100].

So kam es, daß ich erst wieder im April 1908 die Lichtversuche aufnehmen konnte, die, weil sie völlig klare Resultate brachten, etwas genauer geschildert sein mögen.

I. Lichtversuch des Frühjahres 1908. Der Versuch bestand aus 2×12 Eprouvetten, von denen die ersten 12 mit Triest. Meerw. PDA. (lauter Strichkulturen), die zweiten 12 mit Triest. Meerw. PDGel. gefüllt waren (meist Strich-, einige Stichkulturen).

Um sofort feststellen zu können, ob, falls wirklich eine Schädigung der Diatomee durch starkes Licht stattfindet, die Licht- oder die Wärmestrahlen vornehmlich wirksam sind, wurde die Hälfte der geimpften Eprouvetten unter eine mit Leitungswasser gefüllte Senebier'sche Glocke gebracht, die andere frei stehen gelassen. Es bestand also jeder Versuch aus zwei Teilversuchen, der eine mit, der andere ohne Wasserschutz. Jeder Teilversuch enthielt in einem gewöhnlichen runden Glase je 3 Agar- und 3 Gelatineeprouvetten, eingewickelt in schwarzes Papier, völlig vor Lichtzutritt geschützt, und je 3 Agar- und 3 Gelatineeprouvetten als Versuchsgläschen für die Wirkung des Lichtes. Die Belichtung erfolgte an einem offenen Westfenster bei starker Sonnenbestrahlung von $\frac{1}{2}$ 4 Uhr nachmittags bis 6 Uhr abends. Es nahm somit die Belichtungsstärke vom Beginne des Versuches gegen das Ende der Belichtungsdauer ab. Nachher wurden alle Eprouvetten im Zimmer dunkel gestellt.

Ein Blick auf den Kopf der Tabelle 5 dürfte die oben geschilderte Versuchsanstellung noch klarer machen. Es braucht nur hervorgehoben zu werden, daß sich die graphische Darstellung allein auf den Agarversuch beschränkt, da die Gelatine keine klaren Ergebnisse aufwies. Vor allem machte sich ein schwerwiegender Übelstand höchst unangenehm bemerkbar: die rasche Verflüssigung der Gelatine in sämtlichen Versuchseprouvetten. Dadurch entstanden aus allen Gelatine-Stich- und Strichkulturen ohne mein Wollen — Schüttelkulturen. Der zweite Übelstand aber war die große Absorptionsfähigkeit der Gelatine für Wärmestrahlen. So kam es, daß die in ihr verteilten Diatomeen trotz der starken Erwärmung der Luft, in der die Eprouvetten standen, nicht abstarben.

Die Beobachtungen des am 8. April begonnenen Versuches setzten also am 13. April ein und ergaben als erstes Resultat die Unbrauchbarkeit der Gelatine, die von da ab für Lichtversuche mit der *Nitzschia putrida* überhaupt nicht mehr in Betracht kam. Die Diatomeen verrieten am 13. April ihre Anwesenheit durch reichliche winzige Kolonien, die bald heranwuchsen und später eine üppige Vegetation in den Eprouvetten zeigten:

Bezüglich der Ergebnisse des Agarversuches und der darüber gemachten Notizen vergleiche die Tabelle 5, deren Zeichen wieder durch Vergleich mit der Figurenerklärung der Tabelle I verständlich werden.

Ein II. Versuch wurde am 24. April 1908 eingeleitet: Triest. Meerw. PDA., lauter Strichkulturen. 1. Teilversuch ohne, 2. mit Wasserschutz durch eine Senebier'sche Glocke. Beginn des Versuches 4^h p. m.; sofort nach erfolgter Impfung Belichtung wie beim früheren Versuche von 4^h p. m. bis $\frac{1}{4}$ 7^h p. m. durch starke, später allmählich an Intensität verlierende Sonnenbestrahlung. Um $\frac{1}{4}$ 7^h verbarg sich die Sonne hinter Wolken; da bei runden zur Aufnahme der Eprouvetten bestimmten Gefäßen von einer ungleichmäßigen Belichtung der Lichteprouvetten gesprochen werden konnte, kamen von nun an nur Gefäße mit planparallelen Wänden in Verwendung. Um $\frac{1}{2}$ 7^h wurden sämtliche Versuchseprouvetten unter einen Dunkelsturz gegeben, worauf sie am 27. April, 30. April, 8. Mai und 18. Mai zur Untersuchung kamen (vergl. Tabelle 5).

Der III. Versuch mit Eprouvetten (Triest. Meerw. P D A.) wurde am 8. und 9. Mai in Szene gesetzt. Er unterschied sich wesentlich dadurch von den beiden früheren, daß er nun auch noch zwei weitere Teilversuche, einen mit gelbem und einen mit blauem Lichte, angefügt erhielt. Das gelbe Licht wurde durch eine Senebier'sche Glocke mit gesättigter Kaliumbichromat-, das blaue durch eine mit konzentrierter Kupferoxydammoniaklösung erzeugt. Außerdem wurde der Versuch noch dahin verbessert, daß die Eprouvetten ohne Wasserschutz unter eine Glasglocke gestellt wurden, so daß die Versuchsbedingungen möglichst die gleichen waren.

Tabelle 5: Über den Einfluß des Lichtes auf die Nitzschia putrida Benecke.

Beobachtung vom:	Kein Wasserschutz								Versuch vom:
	licht				dunkel				
	I	II	III	IV	1	2	3	4	
3. Dezember 1906		•••	••		••••	••••	••••	••••	18. November 1906 mit Triester Meerw. PD Gel. 19. Nov. mit Triest. Meerw. PDA. 22. > > > > > >

Beobachtung vom:	Kein Wasserschutz								Wasserschutz								Versuch vom:
	licht				dunkel				licht				dunkel				
	I	II	III	IV	1	2	3	4	I	II	III	IV	1	2	3	4	
13. April					••••	••••	••••	••••	••••	••••	••••	••••	••••	••••	••••	••••	8. April 1908, siehe Text p. 49 [705]. Geschichte der Diatomeen: 8. Nov. → 21. Dez. 1907 → 25. Febr. → 8. April 1908.
27. >	•••				••••	••••	••••	••••	••••	••••	••••	••••	••••	••••	••••	••••	
18. Mai .	•••				••••	••••	••••	••••	••••	••••	••••	••••	••••	••••	••••	••••	
11. Juli .	•••				••••	••••	••••	••••	••••	••••	••••	••••	••••	••••	••••	••••	24. April 1908, siehe Text p. 49 [705].
27. April		•			••••	••••	••••	••••	••••	••••	••••	••••	••••	••••	••••	••••	
30. >	•••	•••	•••	•••	••••	••••	••••	••••	••••	••••	••••	••••	••••	••••	••••	••••	
8. Mai .	•••	•••	•••	•••	••••	••••	••••	••••	••••	••••	••••	••••	••••	••••	••••	••••	
18. > .	•••	•••	•••	•••	••••	••••	••••	••••	••••	••••	••••	••••	••••	••••	••~••	••••	
11. Juli .	•••	•••	•••	•••	••••	••~••	••••	••••	••••	••••	••••	••••	••••	••••	••••	••••	
11. Mai			•••	•••	••••	••••	••••	••••	••••	••••	••••	••••	••••	••••	••••	••••	8.—9. Mai 1908, siehe Text p. 49 [705].
12. > .			•••	•••	••••	••••	••••	••~••	••••	••••	••••	••••	••••	••••	••••	••••	
18. > .			•••	•••	••••	••~••	••••	••••	••••	••••	••~••	••••	••••	••••	••••	••••	
19. Juni .			•••	•••	••~••	••••	••••	••••	••~••	••••	••••	••••	••~••	••••	••••	••••	
Beobachtung vom:	Gelbes Licht								Blaues Licht								
	licht				dunkel				licht				dunkel				
	I	II	III	IV	1	2	3	4	I	II	III	IV	1	2	3	4	
11. Mai .	•••	•••	•••	•••	••~••	••••	••••	••••	••••	••••	••••	••••	••~••	••••	••••	••••	
12. > .	••~••	••~••	••~••	••~••	••~••	••~••	••~••	••~••	••~••	••~••	••~••	••~••	••~••	••~••	••~••	••~••	
18. > .	••~••	••~••	••~••	••~••	••~••	••~••	••~••	••~••	••~••	••~••	••~••	••~••	••~••	••~••	••~••	••~••	
19. Juni .	••~••	••~••	••~••	••~••	••~••	••~••	••~••	••~••	••~••	••~••	••~••	••~••	••~••	••~••	••~••	••~••	

Der Versuch bestand somit aus 4×4 Licht- und 4×4 Dunkeleprouvetten, die immer zu je $4 + 4$ unter einer Glocke untergebracht waren. Die Verdunklung wurde wie sonst durch schwarzes Papier besorgt. An jedem Gefäße mit planparallelen Wänden, in dem die Lichteprouvetten der Bestrahlung ausgesetzt wurden, wurde ein Thermometer befestigt, um die unter der Glocke herrschende Temperatur ablesen zu können. Ihre Anzeigen ergaben im ungünstigsten Falle Differenzen von 3° C zwischen den Glocken. Die höchste bei der Bestrahlung beobachtete Temperatur betrug 38.5° C.

Die Impfung des Versuches erfolgte am 8. Mai um $\frac{1}{2}$ 4^h p. m. Da aber der ganze Nachmittag verregnet war, wurde der Versuch erst am 9. Mai um $\frac{1}{2}$ 7^h früh der Belichtung ausgesetzt, die um 1^h beendet wurde. Die Glocken standen dabei im offenen Fenster. Nachher wurden die Eprouvetten bei Zimmertemperatur dunkel gestellt.

In Ergänzung dieser Experimente mit Eprouvetten bemühte ich mich, wie erwähnt, schon bei den ersten Lichtexperimenten des Jahres 1906 und später im Frühjahr 1907 durch Anwendung von Blechbüchsen mit Blechschablonen Kulturen zustande zu bringen, die ad oculos die zerstörende Wirkung des Lichtes demonstrieren sollten. Erst heuer (1908) glückten mir die betreffenden Versuche. Das erste derartige Experiment wurde am 24. April 5^h p. m. begonnen. Die Triest. Meerw. P.D.A.-Schalen — wie für derartige Versuche gewöhnlich: Dichtsaaen — wurden in den mit Blechschablonen versehenen Büchsen zunächst sofort nach der Impfung von 5^h p. m. bis $\frac{1}{4}$ 7^h dem langsam abnehmenden Sonnenlichte ausgesetzt. Am folgenden Tage wurden sie nochmals, und zwar der zunehmenden Morgensonne von 9^h bis 9^h 50^m exponiert, wobei die Temperaturen 37° , 38° und 39° C in der Luft abgelesen wurden, während die Schablone bloß auf 36° C erhitzt worden war. Nach Beendigung der Belichtung wurden die Schalen unter Glas- und Blechsturz ins Dunkle gestellt. Schon am Montag, den 27. April und noch besser am Mittwoch, den 29. April war der Unterschied zwischen belichteten und nicht belichteten Stellen zu sehen.

Eine dieser Kulturschalen wurde am 22. Mai 1908 photographiert (Fig. 7, Taf. III).

Die Ergebnisse der Lichtversuche.

Die Tabelle zeigt übereinstimmend in den Kulturen ohne Wasserschutz ein bedeutendes Übergewicht der Entwicklung in den verdunkelten gegenüber den nicht verdunkelten Kulturen. Immer erreichten die Diatomeen in den Dunkelkulturen ohne Wasserschutz schon das Maximum der Entwicklung, wenn in den zugehörigen Kontrolleprouvetten meist eben erst ein Wachstum zu sehen war. Damit erscheint erwiesen, daß, da das schwarze Papier alle Strahlengattungen absorbiert und in seinem Schutze die farblosen Diatomeen gedeihen, das Licht als solches einen schädigenden Einfluß auf unsere Diatomee ausübt.

Welche Strahlen sind es nun, die als schädlich angesehen werden müssen?

Schon weniger ausgeprägt wie in den Teilversuchen ohne Wasserschutz zeigt sich der schädigende Einfluß bei der Bestrahlung der Diatomeen mit weißem Licht durch ein Wärmefilter, wie es eine mit Flußwasser gefüllte Senebiersche Glocke darstellt. Doch ist er immer noch, wenn man von dem Versuche vom 8. April absieht, bei dem allmählich an Leuchtkraft abnehmendes Sonnenlicht der ersten Apriltage in Verwendung kam, unzweifelhaft feststellbar. Der Unterschied zwischen belichteten und unbelichteten Kulturen wird also geringer, wenn man die Wärmestrahlen durch Wasser absorbieren läßt, und es erscheinen, wenn man jetzt Lichtkulturen ohne und mit Wasserschutz vergleicht, die letzteren gegenüber den ersteren bedeutend gefördert. Es ist somit der Schluß erlaubt, daß die Wärmestrahlen des Sonnenlichtes einen großen Anteil an der schädigenden Wirkung haben.

Und nun die leuchtenden Strahlen des Spektrums?

Wie die früher gemachten Angaben über die abgelesenen Temperaturen zeigten, sind die beiden farbigen Glocken in ihrer Wirkung auf die Diatomee direkt vergleichbar, da keine merklichen Temperaturunterschiede unter beiden festgestellt werden konnten und beide in gleicher Weise wärmeabsorbierend wirkten.

Wenn wir nun zwischen den Lichtkulturen im gelben und denen im blauen Spektralbezirke einen wesentlichen Unterschied feststellen könnten, so müssten wir ihn lediglich der Wirkung der betreffenden Strahlengattungen des Spektrums, eventuell natürlich den unsichtbaren ultravioletten Strahlen zuschreiben. Ein solcher wesentlicher Unterschied ist nun tatsächlich vorhanden. Während sich im gelben Lichte eine außerordentlich starke Entwicklung schon am zweiten Versuchstage feststellen ließ, ist in den Blaulicht-Lichtkulturen erst der Beginn einer deutlichen Entwicklung zu sehen. Wir kommen also zu dem Schlusse, daß auch der blaue eventuell im Vereine mit dem ultravioletten Bezirk des Sonnenspektrums ausgesprochen schädigend auf die farblosen Diatomeen einwirkt. Es sind also in erster Linie die Wärmestrahlen, in zweiter der blaue Teil des Spektrums, welche die *Nitzschia putrida* schädlich beeinflussen.

Sehr schön kann man die Empfindlichkeit unserer Diatomee gegen das starke Sonnenlicht demonstrieren, wenn man sie in Dichtsaaten in Agar säet und dann in mit Stanzen versehenen, sonst allseits geschlossenen Büchsen der Sonnenbestrahlung aussetzt. Auf diese Weise erhält man durch Zerstörung der Diatomeen an den belichteten Stellen die Schriftzüge ausgespart mitten zwischen massenhaft entwickelten Kolonien. Die farblose Diatomee verhält sich somit in dieser Beziehung ähnlich wie andere farblose Organismen, insbesondere die Bakterien¹, unterscheidet sich aber gleichzeitig wesentlich von den braunen Süßwasserdiatomeen, die zwar auch sehr empfindlich gegen zu starke Sonnenbestrahlung sind, doch als grüne aufs Licht angewiesene Organismen gerade nur im Lichte zu gedeihen vermögen und somit bei partieller Verfinsterung der Kulturschale in Blechbüchsen mit Schablonen nur da, wo das Licht Zutritt hat, also in den ausgesparten Räumen der Buchstaben aufkommen können.²

Ein wesentlicher Faktor für das Gelingen des eben beschriebenen Versuches mit der *Nitzschia putrida* ist eine genügende Lichtintensität. Im diffusen Tageslichte des Nordfensters versagt der Versuch auch im Frühjahr, bei der geringen Intensität des Lichtes versagt er auch im Sonnenlichte des Winters. Nicht nur dieser, alle beschriebenen Versuche mißglücken bei Licht geringerer Intensität; denn die Diatomeen entwickeln sich dann, gleichgültig, ob verdunkelt oder nicht, ausgezeichnet. Die farblosen Diatomeen wachsen zum Unterschiede von den reingezüchteten Süßwasserformen³ im Dunkeln ebensogut wie im diffusen Lichte.

Mit dieser Fähigkeit hängt es auch zusammen, daß sie in Wärme und Licht gut absorbierenden Medien auch dann gedeihen, wenn sie selbst starkem Sonnenlichte auf lange Zeit ausgesetzt bleiben. Diese Fähigkeit mag ihnen insbesondere an ihren natürlichen Standorten bei dem oft stundenlangen freien Liegen der Fucaceen im Sonnenlichte außerordentlich zustatten kommen.

¹ Vgl. Laffar Fr., Technische Mykologie, Jena, 1897, Verl. v. G. Fischer, p. 74.

² Richter Oswald, I, l. c., p. 74 [100]. Photographie Fig. 3.

³ Richter Oswald, I, l. c., p. 68 [94].

XIII. Die Vermehrungsweise der *Nitzschia putrida* Benecke.

Schon bei dem Berichte über die Gewinnung der zweiten Reinzucht¹ ist davon die Rede gewesen, daß es einige Male gelang, eine einzige Diatomee auf sterilen Agarstückchen in Ausgußplatten von Triest. Meerw. A. steril zu übertragen und auf diese Art Kulturen zu erhalten, die in der Tat lauter Individuen einer Urahne enthielten — höchst wahrscheinlich durchweg gleichgeschlechtiges Plasma, wie später² noch ausführlich erörtert werden wird.

Es braucht wohl kaum hervorgehoben zu werden, daß ich mir diese Gelegenheit nicht entgehen ließ, nachzusehen, ob die farblose Diatomee auch dem normalen Teilungsgesetze der Diatomeen folgt, ob denn in Übereinstimmung mit den täglichen Erfahrungen an den Agar- und Gelatine-Strich- und Stichtkulturen³ auch die Teilungsgeschwindigkeit entsprechend groß ist und ob in dem schon häufig beobachteten Dickerwerden⁴ bei der mit der Teilung verbundenen Verkleinerung der Längendimension irgendeine Gesetzmäßigkeit nachgewiesen werden könnte.

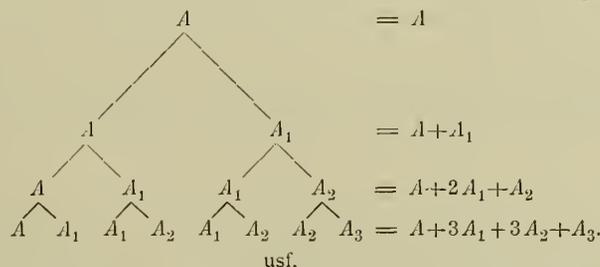
1. Das Teilungsgesetz und die Teilungsgeschwindigkeit der farblosen Diatomee.

Bekanntlich haben John Denis Mac Donald⁵ und E. Pfitzer⁶ unabhängig von einander im Jahre 1869 das Teilungsgesetz anscheinend für die Gesamtheit der Diatomeen dahin präzisiert, daß die Art und Zahl der nach einer bestimmten Menge von Teilungen entstandenen Diatomeen gefunden werden könne durch die sovielte Potenz eines Binoms, als die Zahl der Teilungen angibt. 1892 hat Miquel (s. p. 54 [712]) das gleiche Gesetz für seine in Kultur befindliche *Nitzschia linearis* abgeleitet.

Ist also A das Ausgangsindividuum, so liefert dieses nach einer bestimmten Zeit ein Individuum A_1 , das gleich ist $A-2\gamma$, wenn unter γ die Dicke der Diatomeenschale verstanden wird, und eines, das genau so groß ist wie das Mutterindividuum.



Für das neue A gilt eine gleiche Überlegung, A_1 liefert nun ein Individuum A_1 und ein $A_2 = A_1 - 2\gamma = A - 4\gamma$ usf., d. h.



Nach der sechsten Teilung z. B. wäre die Art und die Zahl der Individuen ausgedrückt durch die sechste Potenz des Binoms $(A+A_1)$ also gleich:

$$\begin{aligned} &= A + \binom{6}{1} A_1 + \binom{6}{2} A_2 + \binom{6}{3} A_3 + \binom{6}{4} A_4 + \binom{6}{5} A_5 + A_6 = \\ &= A + 6A_1 + 15A_2 + 20A_3 + 15A_4 + 6A_5 + A_6. \end{aligned}$$

¹ Siehe Kapitel I, p. 8 [664].

² Siehe Kapitel XIX, p. 99 [755].

³ Siehe Kapitel XX, 5, p. 108 [764].

⁴ Siehe Kapitel XIII, p. 70 [726].

⁵ Mac Donald J. D., On the structure of the Diatomaceous fustule and its genetic cycle. Ann. a. Mag. of Nat. Hist. 4., ser. vol. III, 1869, p. 1.

⁶ Pfitzer E., Über Bau und Zellteilung der Diatomaceen. Sitzungsber. d. Niederrhein. Gesellsch. f. Natur- u. Heilk. zu Bonn, 1869, p. 81. Abgedruckt in Bot. Zeitg. 1869, p. 774 f. — Pfitzer E., Untersuchungen über Bau und Entwicklung der Bacillariaceen. Hansteins Abhandlungen, I, Bonn, 1871, 2. Heft, p. 21. Hier vgl. auch p. 24, inwieweit A. Braun (1851) und Wallich (1860) schon zu ähnlichen Schlußfolgerungen gekommen sind. Da aber erst Mac Donald und Pfitzer das Wesen der Teilung der Diatomeen erfaßt haben, stehe ich nicht an, es das Pfitzer-MacDonald'sche Gesetz zu nennen. — Pfitzer E., Die Bacillariaceen

Dieses 1869 von MacDonal d und Pfitzer gefundene Gesetz erhielt bezüglich seines Geltungsbereiches 1884 eine bedeutende Einschränkung, indem durch Müller¹ der klare Beweis erbracht wurde, daß gewisse *Melosira*-Arten diesem Gesetze nicht folgen. Das etwas komplizierte Gesetz, das die Teilung der Melosiren beherrscht, kann leider wegen Raummangels nicht erörtert und muß in der Originalarbeit nachgesehen werden, ich möchte aber gleich bemerken, daß Miquel² dagegen manche beachtenswerte Einwände gemacht hat.

Es wurde auch schon von zwei Seiten versucht, das Teilungsgesetz der *Nitzschia putrida* und ihre Teilungsgeschwindigkeit zu ermitteln, doch gestatteten die verwendeten Rohkulturen keine sicheren Schlüsse über die Vermehrungsweise unserer Diatomee.

Benecke³ verwendete Kulturen in feuchten Kammern, die »derart angesetzt wurden, daß ein Stück einer mit farblosen Nitzschien bevölkerten Kahlhaut oder eines Schlickpartikelchens etc. auf ein Deckglas aufgedrückt wurde, so daß sich dann auf diesem ein kleiner mit Nitzschien und anderen Organismen durchsetzter Tropfen befand, der direkt als Hängetropfen diente. Es mußte dem Zufall überlassen bleiben, wie viele Nitzschien in eine Kultur hineingerieten, nicht selten gelang es, ein einziges Individuum in einem Tropfen zu erhalten«.

»An diesen Kulturen wurde zunächst versucht, die Vermehrungsgeschwindigkeit der farblosen Diatomeen unter bestimmten Bedingungen zu ermitteln, doch gelang es nicht, übereinstimmende Resultate zu erzielen, offenbar, weil die Konkurrenz der anderen mit im Tropfen befindlichen Organismen sich in verschiedenem Maße geltend machte«; es wird berichtet, »daß in dem Falle, in dem die schnellste Vermehrung beobachtet wurde, innerhalb einer Woche (!) zwei Exemplare der *N. putrida*, die sich in einer Kultur befanden, sich je zweimal (!) geteilt hatten. Am 7. April waren zwei, am 14. acht Exemplare in dem Tropfen zu sehen (Zimmertemperatur, Dunkelschrank). In anderen Fällen ging die Vermehrung viel (!) langsamer vor sich.«

Eine wichtige Art der Berechnung des sogenannten Vermehrungsfußes hat später Karsten⁴ in die Diatomeenliteratur eingeführt und auch auf die farblose *Nitzschia putrida* angewendet. Er übertrug dabei die von Hensen⁵ für Peridineen benutzte Bestimmung des Vermehrungsfußes auf die Diatomeen.

Darnach ist $\log w = \frac{\log C - \log A}{n}$, wobei $w =$ Vermehrungsfuß, $A =$ dem eingezahlten Kapital = den eingepfropften Diatomeen, $C =$ der Endsumme und $n =$ der Zahl der Versuchstage. Es wird sich später⁶ nochmals die Gelegenheit finden, auf Karstens wichtige Arbeit genauer einzugehen, vorläufig:

(Diatomeen). Schenk's Handbuch der Botanik, 2. Bd., Breslau, 1882, p. 435. — Ein sehr gutes Referat verfaßte Tomaschek P., Über das Entwicklungsgesetz der Diatomeen, Bot. Zeitg. 31. Jahrg. 1873, p. 273. In neuester Zeit wurden gewisse Konsequenzen dieses Gesetzes von Karsten diskutiert (Auxosporenbildung der Diatomeen. Biolog. Centr., Bd. XX, 1900, H. 8, p. 263, und das Indische Phytoplankton, I. c., 1907, p. 506. Gibt es Diatomeenzellen, die andauerndes Schalenwachstum besitzen?).

¹ Müller O. Die Zellhaut und das Gesetz der Zellteilungsfolge von *Melosira (Orithosira Thwaites) arenaria* Moore, Pringsh. Jb. f. w. B., 14. Bd., 1884, p. 232.

² Miquel P., Recherches expérimentales sur la physiologie, la morphologie et la pathologie des Diatomées. Annales de Micrographie. Octobre-Novembre 1892, p. 4, 9 u. 11.

³ Benecke W., I, I. c., p. 563. Die Rufzeichen im Zitate rühren von mir her.

⁴ Karsten, G. I, I. c., p. 430.

⁵ Hensen V. und Apstein C., Die Nordsee-Expedition 1895 des Deutschen Seefischereivereines. Über die Eimenge der im Winter laichenden Fische. Kap. VI. Über die Fruchtbarkeit des Wassers. Wissensch. Meeresunters. Neue Folge II. — Kiel u. Leipzig 1897, p. 79.

⁶ Siehe p. 60 [716].

Eigene Untersuchungen an der *Nitzschia putrida* Benecke.

Wie oben erwähnt, ließ sich einige Male je eine Diatomee auf einem Agarstückchen steril übertragen. Das erste Mal gelang diese Überimpfung am 16. November 1906. Die Übertragung erfolgte von einer Kultur Triest. Meerw. A. vom 15. November 1906 auf 3 Prozent ClNa L. (Leuzin in 0.5 pro Mille).

Am 20. November betrug der Radius des Areales, auf dem sich die Diatomeen verbreitet hatten, durchschnittlich 8mm , was einer Fläche von 201mm^2 entspricht. Nun wurden die Diatomeen gezählt, ihre Zahl belief sich auf 180.

Angenommen nun, die farblose *Nitzschia* verhielte sich wie ihre braune Verwandte in Miquels¹ Versuch und folgte gleichfalls dem Gesetze von Pfitzer² und MacDonald,³ so müßten sich die Zahlen der nach den jeweiligen Teilungen vorhanden gewesenen Individuen verhalten haben wie die aufsteigenden Potenzen von $2 = 2, 4, 8, 16, 32, 64, 128, 256$.

Angenommen also, die Diatomee folgte dem Pfitzer'schen Gesetze, so hätte sie sich in dem Augenblicke des Zählens gerade bei der Ausführung der achten Teilung befunden und die siebente eben vollendet gehabt.

Die Zählung erfolgte nach 40 Versuchsstunden. Somit hätte, immer unter der obigen Voraussetzung, die Diatomee zu jeder Teilung etwa fünf Stunden gebraucht, wobei natürlich noch weiter vorausgesetzt wird, daß jede Teilung unter normalen Verhältnissen die gleiche Anzahl Stunden benötigt.

Bevor ich nun in der Beschreibung meiner Versuche fortfahre, möchte ich die Methode genauer erörtern, die bei der Zählung von Hunderten, ja oft Tausenden von Diatomeen in Anwendung kam, da ich mich nicht erinnern kann, sie irgendwo beschrieben gefunden zu haben. Es ist klar, daß die Benutzung von Reinkulturen und das Bestreben, sie rein zu erhalten, ein Herausnehmen ganzer Agarkomplexe aus der Petrischale, das notwendigerweise wesentliche Verschiebungen, Auf-, Über- und Durcheinanderlagerungen der Diatomeen zur Folge gehabt hätte, völlig ausschloß. Mit Zählplatte und karriertem Deckglas usf. war also in unserem Falle nichts anzufangen. Ebenso war die Zählung im hängenden Tropfen wegen der in Anbetracht der Häufung großer Diatomeenmassen bald erfolgenden Erschöpfung der relativ geringen Nährstoffmenge, die er birgt, unverwendbar. Und ein Arbeiten unter Deckglas schien wegen der Erfahrungen Beneckes⁴ über Aerotaxis und meinen⁵ über das O-Bedürfnis nicht ratsam. So blieb nichts anderes übrig, als sich mit den gegebenen Verhältnissen irgendwie abzufinden.

Bei den ersten Zählversuchen, also z. B. bei der Feststellung der obigen Zahl 180 wurde mit der Linsenkombination Reichert Obj. 0, Ok. II gearbeitet und mit der in Tinte getauchten Feder auf dem nach oben liegenden Boden der Petrischale über die ganz deutlich sichtbaren Diatomeen Punkte gemacht, wobei auf einem bereit gelegten Papiere nach je 20 Punkten auf der Schale ein Strich auf dem Papiere gemacht wurde. Die Zahl der Striche brauchte nachher nur mit 20 multipliziert zu werden und die Zahl der Diatomeen war festgestellt.

Diese primitive Methode hatte vor allem den Vorteil der Einfachheit für sich und, daß sie trotzdem sehr gute Resultate zu geben vermochte, zeigen die Ausführungen auf p. 58 [714]; sie ist in etwas veränderter Form die, die der Bakteriologe⁶ bei der Wasseruntersuchung verwendet, nur zählt er mit der Lupe Kolonien, hier aber werden Individuen gezählt. Auch reichte sie bei kleinen Kolonien mit geringer Individuenzahl aus, aber bei sehr großen Zahlen und sehr dichtem Wuchse der Diatomeen versagte sie. Die Tintenpunkte rückten

¹ Miquel P., l. c.

² Pfitzer E., l. c.

³ MacDonald J. D., l. c.

⁴ Benecke W., l. c., p. 554 u. 558.

⁵ Siehe Kapitel VII, p. 34 [690].

⁶ Vergl. Mez C., Mikroskopische Wasseranalyse. Berlin, 1898. Verl. v. J. Springer.

nämlich unter diesen Verhältnissen so nahe aneinander, daß sie zusammenflossen. Natürlich war es dann mit dem Zählen zu Ende, man wußte nicht mehr was schon gezählt war; auch war die Durchsicht durch die Schale völlig behindert.

Dieser Schwierigkeit kann nun durch einen Reichert'schen Zeichenapparat¹ völlig abgeholfen werden. Man bereitet ein kariertes Papier (Quadrate 0.5 cm), wie es auch käuflich erhalten wird, in der Weise vor, daß man mit der Feder und mit dem Lineal zwei im selben Punkte unter Winkeln von 45° gegeneinander verschobene Kreuze zieht, wodurch die Papierfläche in acht Sektoren geteilt wird.

Nun befestigt man in der vorgeschriebenen Weise¹ den Zeichenapparat auf dem Mikroskope, der bei der richtigen Einstellung das Bild der zahlreichen zur Kolonie vereinigten Diatomeenindividuen auf das vorbereitete Papier wirft. Es benötigt nun nur noch ein kleines Verschieben, um den Mittelpunkt der Kreuzsysteme mit dem Koloniemittelpunkt zur Deckung zu bringen und das Zählen kann beginnen. Man sieht sofort ein, daß, da die Feder die Punkte sofort auf das Papier machen kann, das Verwischen bei sauberem Arbeiten sozusagen ausgeschlossen ist, daß durch die Vergrößerung des Bildes ein leichteres Punktieren und damit ein sicheres Zählen ermöglicht wird. Nur muß auf zwei Sachen geachtet werden. Das Zeichenpapier muß gut befestigt sein und von der einmal begonnenen Zählung darf unter keiner Bedingung aufgestanden werden, denn jede kleine Verschiebung der Schale oder des Papiers bringt den Zählenden in diesem Falle um den ganzen Erfolg der bereits geleisteten mühevollen Zählarbeit.

Es sei noch ergänzend erwähnt, daß man selbstverständlich durch konzentrische Kreise oder durch Einschleiben weiterer Radien das Gesichtsfeld noch genauer teilen kann, doch pflegte ich im großen und ganzen mit den erwähnten 8 Sektoren auszukommen.

Um einen Begriff zu geben, wie ein derartig abgezähltes Gesichtsfeld aussieht oder sich ein Sektor ausnimmt, in dem man die Punkte statt der Diatomeenbildchen eingetragen hat, mögen 2 seinerzeit hergestellte Zählbilder wiedergegeben werden (Fig. 3 a und b).

Aus den beiden Zählungsbildern geht auch gleichzeitig hervor, daß ich mich in der Folge wegen der entgegen dem p. 58 [714] mitgeteilten Versuche vielfach beobachteten Übereinstimmung in den Sektorenwerten damit begnügte, zwei neben- oder gegenüberliegende Sektoren auszuzählen und den Mittelwert aus beiden Zählungen mit 8 zu multiplizieren. Die ersten Zählungen sind aber durchaus durchgezählt worden.

Auf eine Fehlerquelle sei noch aufmerksam gemacht, die sich dann empfindlich geltend macht, wenn man völlig submerse oder solche submerse Kolonien² zählen will, die die Oberfläche erreicht haben und sich hier ausbreiten. Richtig werden dann nur die Oberflächenpartien gezählt sein, da man auf größere Tiefe bei den über- und durcheinanderliegenden Diatomeen der submersen Kolonien die einzelnen Individuen, die gezählt wurden, nicht im Gedächtnis behalten kann. Immerhin leistet die Methode bei zwei Lagen dicken Kolonien immer noch vorzügliche Dienste. Das einfachste natürlich ist es, um derartige Fehler, wie die erwähnten, zu vermeiden, nur reine Oberflächenkolonien abzuzählen.

Es lag auch der Gedanke nahe, die Zählung derart vorzunehmen, daß man die Kolonien zuerst photographiert und dann die Bilder der photographierten Diatomeen gezählt hätte, doch spielte in diesem Falle der erwähnte Fehler noch mehr mit, da bei der Photographie die Individuen nur einer einzigen Ebene aufgenommen werden, so daß ich mich entschloß, bei der erörterten Zeichenapparat-Zählmethode zu bleiben.

Es mögen nun noch einige Angaben folgen, die über das Teilungsgesetz und die Teilungsgeschwindigkeit der *Nitzschia putrida* hinlänglichen Aufschluß geben dürften.

Am 22. November 1906 10 Uhr früh wurde wieder eine einzelne Diatomee auf etwas Triest. Meerw. A.³ in eine Petrischale mit Triest. Meerw. A. übertragen. Die Übertragung erfolgte steril.

¹ Brauer Fr., Reichert's neuer Zeichenapparat. Z. f. w. Mikroskopie. Bd. VIII., Jahrg. 1891, p. 451.

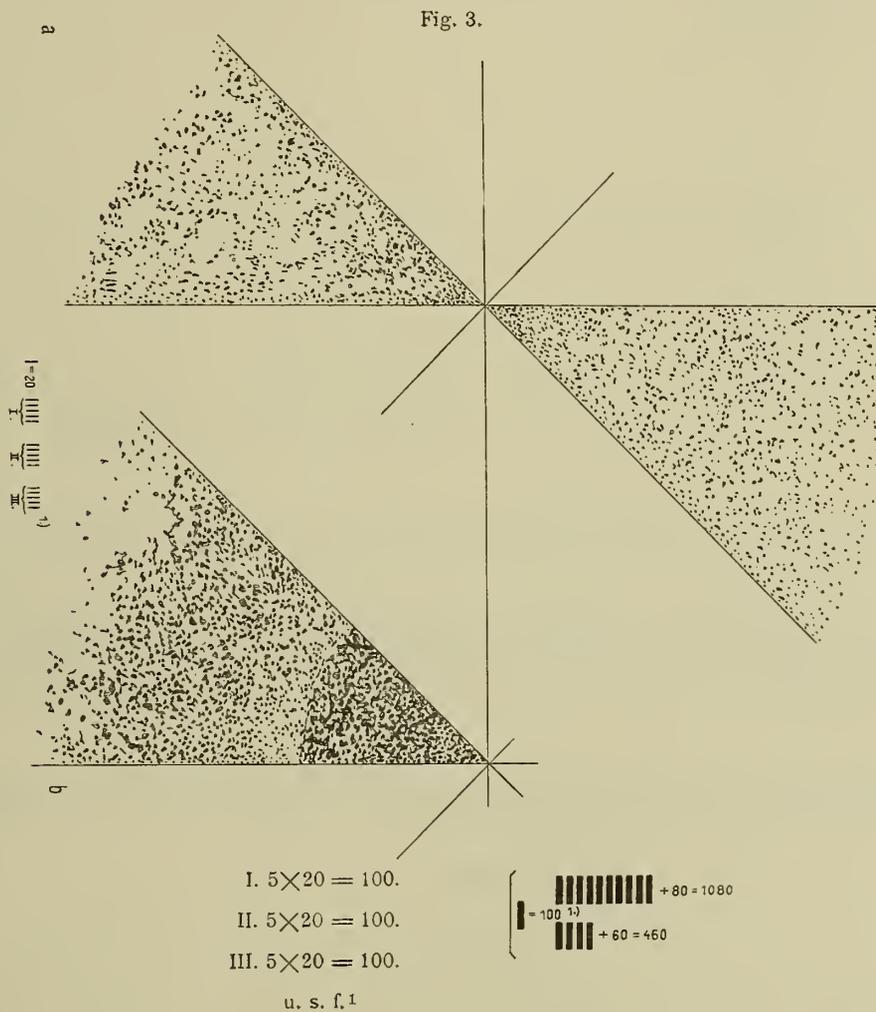
² Siehe Kapitel XX, 1, 2. und 5., p. 104, 106 und 108 [760, 762, 764].

³ Siehe Kapitel VI, p. 29 [685].

Nach der Berechnung vom 20. November mußten nach fünf Stunden zwei Diatomeen zu sehen sein. Daher wurde am 22. November um 5 $\frac{1}{2}$ Uhr nachmittags die Kultur kontrolliert und tatsächlich wurden zwei Diatomeen gefunden.

Wiedergaben zweier Zählungsbilder mit Reichert's Zeichenapparat.

(Mit Objektiv 3, Okular II.)



a) Zählung einer Kolonie der Var. *longa* am 26. Jänner. Deren Geschichte lautete 22. Dezember 1906 → 22. Jänner 1907.

b) Zählung einer Kolonie der Var. *nanella* am 26. Jänner 1907 von $\frac{1}{2}10$ — $\frac{1}{2}11^h$ vormittags.

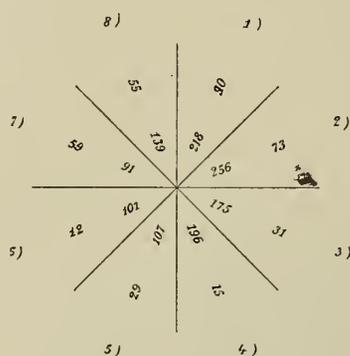
Am 23. November zählte ich um 10 Uhr früh, also nach 24 Stunden, 13 Individuen. Während 24 Stunden konnten nach der Berechnung vom 20. November bloß vier Teilungen stattgefunden haben ($4 \times 5 = 20$). Vier Teilungen setzten aber das Vorhandensein von 16 Individuen voraus, eine Zahl, die

¹ Um das Bild nicht undeutlich zu machen und die Addition zu vereinfachen, wurde für je hundert Individuen ein dicker Strich gesetzt. Danach waren also in dem abgebildeten Oktanten (b) 1540 und in der Kolonie rund 12.320 Individuen vorhanden gewesen. Wenn man nun bedenkt, daß $2^{13} = 8192$ und $2^{14} = 16.384$, so muß sich die Diatomee während der Zählung eben in der 14. Teilung befunden haben.

Bei dem Zählungsbild a ergab die Zählung in analoger Weise¹ im oberen Sektor $43 \times 20 = 860$, im unteren $36 \times 20 = 720$, also in beiden durchschnittlich 790 Individuen der Var. *longa*, was $790 \times 8 = 6320$ Individuen in der Kolonie entspricht. Da nun $2^{12} = 4096$ und $2^{13} = 8192$, befand sich die Diatomee eben in der 13. Teilung, als die Kolonie gezählt wurde.

nur um drei von der beobachteten abweicht. Damit wäre aber wieder eine Bestätigung für die Zahl von rund fünf Stunden als Lebensdauer der einzelnen Diatomee gefunden.

Am Samstag, den 24. November um 6 Uhr abends war der hängende Tropfen Kondensationswasser, in dem sich die Diatomeen ursprünglich befanden (die Schale stand wegen des leichteren Zählens mit dem Deckel nach unten) und das benachbarte Agar übersät mit farblosen Diatomeen; um sie zu zählen, wurde das Gebiet von rund 314 mm² in acht Sektoren geteilt, von denen jeder aus einem Kondensationswasserbezirk I und einem Agargebiet II bestand, für welche die gefundenen Diatomeenzahlen getrennt bestimmt wurden; sie lauteten:



	I	+	II
1.	218	+	90
2.	256	+	73
3.	175	+	31
4.	196	+	15
5.	107	+	29
6.	101	+	12
7.	91	+	59
8.	139	+	55

Summe 1283 + 364 = 1647 Diatomeen.

Nun sind vom

22. November, 10 Uhr a. m. bis 24. November 10 Uhr a. m. . .48 Stunden,

vom

24. November, 10 Uhr a. m. bis 24. November 6 Uhr p. m.8 Stunden,

zusammen56 Stunden

verflossen.

Unter der Annahme, daß die Lebensdauer der farblosen Diatomee fünf Stunden beträgt und dieser Wert bei allen Teilungen konstant bleibt, ergeben sich als theoretisch postulierte Diatomeenmengen

nach 5 Stunden	2,
» 10 »	4,
» 15 »	8,
» 20 »	16,
» 25 »	32,
» 30 »	64,
» 35 »	128,
» 40 »	256,
» 45 »	512,
» 50 »	1024,
» 55 »	2048.

Es wäre somit nach der Versuchszeit von 56 Stunden theoretisch die Zahl 2048 zu erwarten gewesen.

Die tatsächlich gefundene Zahl 1647 und die theoretisch postulierte sind aber nur um 401 voneinander verschieden, eine Differenz, die durch die Fehlerquellen beim Zählen ihre Erklärung finden könnte und durch die Wahrscheinlichkeit, daß sich nicht alle Individuen auf die Minute genau teilten, daß also die vielleicht wenige Sekunden nach der Zählung sich trennenden Doppelindividuen eben als je ein

Individuum gezählt wurden, wodurch die Gesamtzahl hätte herabgedrückt werden müssen. Es scheint daher auch die Annahme berechtigt, daß sich die Diatomee bei der Zählung in der 11. Teilung befand, und man dürfte nicht zu stark fehlgehen, wenn man an dem Werte von fünf Stunden als mittlere Lebensdauer der *Nitzschia putrida*-Zelle festhält.

Somit ginge, da ja sämtliche bei der Überprüfung des Teilungsmodus der rein gezüchteten Diatomee notwendigen Annahmen, Berechnungen und Voraussagen, die die Diatomee nicht Lügen strafe, auf den Folgerungen des Pfitzer'schen Gesetzes basierten, aus den obigen Ausführungen als gesichert hervor, daß die reingezüchtete *Nitzschia putrida* zweifellos dem Pfitzer-Mac Donald'schen Gesetze folgt, wobei es höchst wahrscheinlich ist, daß unter den gebotenen Ernährungs- und Temperaturverhältnissen und bei Bewahrung im Dunkeln von einer Teilung der Diatomee bis zur anderen rund fünf Stunden vergehen, daß also jedes Individuum während der Koloniebildung¹ eine mittlere Lebensdauer von rund fünf Stunden besitzt. Nach diesen Erfahrungen würde sich aber diese farblose Bacillariacee, was Teilungs- und Wachstumsgeschwindigkeit anlangt, den raschwüchsigen Bakterien² würdig an die Seite stellen. Gleichzeitig wäre damit aber auch das oft beobachtete rapide Erscheinen der Kolonien erklärt.³

Danach hätten nun freilich die angeführten Berechnungen und Beobachtungen zu ganz anderen Ergebnissen bezüglich der Teilungsgeschwindigkeit geführt, als die Angaben von Benecke⁴ und Karsten⁵ hätten vermuten lassen; so daß ich mich genötigt sehe, nochmals auf die wichtigen Arbeiten beider Forscher einzugehen.

Da Benecke gerade bei diesen Versuchen nur von Schlickproben spricht, von einer Nährlösung bestimmter Zusammensetzung aber nichts erwähnt, kann ich mich bezüglich der Möglichkeit, daß die Ernährung für den großen Wachstumsunterschied verantwortlich zu machen sei, nur an die Angaben von Karsten halten. Karsten nimmt Asparagin-Zuckerlösungen in Meerwasser des Tyrrhenischen Meeres (Versuchsstation Neapel) und eine Lösung von Asparagin in Meerwasser, durchaus Lösungen, deren hoher Nährwert nach den Erfahrungen über die N- und C-Nahrung der *Nitzschia putrida*⁶ niemand in Frage stellen wird. Und wenn man bedenkt, daß ich gerade bei dem geschilderten Versuche nur eine Lösung von ungewässertem Agar in Triester Meerwasser benutzte, wird man mit noch mehr Gewißheit zugeben, daß der Nahrungsmangel nicht die Schuld an dem großen Unterschiede in der

¹ Daß es später nach Entwicklung der Kolonie anders sein muß, beweist die Tatsache, daß die Kolonien, wenn sie eine bestimmte Größe erreicht haben, entweder gar nicht mehr oder nur ganz wenig weiterwachsen. Da man diesen Punkt des Stillstandes durch Dichtsaat rascher erreichen, durch möglichst weitgehende Verdünnung des Impfmateri als aber weit hinausschieben kann, ist die Annahme wohl berechtigt, daß dieser Wachstumsstillstand entweder auf Nahrungsmangel oder auf Ausscheidung von gegenseitig hemmenden Giftstoffen oder auf beides zugleich zurückgeführt werden kann. Es sind übrigens analoge Erfahrungen bei Bakterien schon oft gemacht worden und für Grünalgen verzeichnet sie Beijerinck M. W. (Kulturversuche mit Zoochlorellen etc., I. c.); auch für braune Süßwasserdiaomeen ist etwas Ähnliches festgestellt worden (Richter O., I und II, I. c.). Man könnte auf den Gedanken kommen, diese Tatsache mit heranzuziehen, um die Differenz von 401 in dem obigen Zählversuche zu erklären. Daß sich die Sache anders verhält, wird gleich gezeigt werden. Ich möchte hier nur zum Vergleich auf Müller's M. Untersuchungen über den Typhusbacillus verweisen (zitiert nach Gotschlich E., I. c., p. 422), der gezeigt hat, daß schon nach 24 Stunden beim Typhusbac. die schädigenden Einflüsse so Oberhand gewannen, daß die Generationsdauer um das doppelte oder mehr verlängert wurde. Vgl. mit der Teilungsgeschwindigkeit der *Nitzschia putrida* (= fünf Stunden) die Erfahrungen Lüder's, I. c., p. 52, an *Achnanthes longipes* Ktz., bei der >48!< Stunden vergehen, bis eine aus der Teilung hervorgegangene Zelle so weit ausgebildet ist, daß sie aufs neue sich teilen kann. Auch Lauterborn's, I. c., Beobachtungen über Teilung von Diatomeen wären hier zum Vergleiche heranzuziehen.

² Gotschlich E., Fortpflanzung, Wachstum und Fruktifikation der Mikroorganismen. In Flüggé C., Die Mikroorganismen. Leipzig 1896. Verl. v. F. C. W. Vogel. I. F., p. 421.

³ Vgl. Kapitel XX, 5, p. 108 [764].

⁴ Benecke W. I, I. c., p. 563.

⁵ Karsten G. I, I. c., p. 428.

⁶ Siehe Kapitel III, p. 19 [675].

Teilungsgeschwindigkeit in seinen und meinen Versuchen gewesen sein kann, von dem langsamen Wuchse der *N. putrida* in Benecke's Experimenten gar nicht zu reden.

Den Grund für den Unterschied unserer Angaben sehe ich vielmehr in der Tatsache, daß Benecke und Karsten mit Roh-, ich mit Reinkulturen gearbeitet haben.

Bei der großen Empfindlichkeit der Diatomee gegen Gifte, ob sie nun aus Münzen¹ gelöst werden oder aus Stoffwechselprozessen von Hyphomyceten stammen² oder aber von ihnen selbst ausgehen,³ ist es nicht zu wundern, daß sie auch durch Bakteriengifte geschädigt werden, die sich in nicht unerheblicher Menge in Karsten's, vor allem aber in Benecke's Zählkulturen befunden haben mögen.

Es dürfte vielleicht ganz instruktiv sein, die nach der oben⁴ zitierten Formel berechneten Vermehrungsfüße aus Benecke's, Karsten's und meinen Versuchen nebeneinander zu schreiben. Es wird dabei der in Rede stehende Unterschied besonders klar zutage treten.

Tabelle 6: Über den Unterschied in der Größe des Vermehrungsfußes der *Nitzschia putrida* Benecke in den Experimenten von

bei Verwendung von:	Benecke	Karsten		Richter
	Schlick in Meerwasser	Asparagin 20/0	Asparagin 20/0 Zucker 20/0	Triest. Meerw. A.
	1·219	1·58	1·87 2·236	für das erste $\frac{1}{3}$ d. Tages = 8.
		1·87	1·913 2·739	für die folgenden $\frac{2}{3}$ Tage = 16·57.
		2·646	2·08 3·162	die nächsten $\frac{4}{3}$ Tage = 37·76.

Diese Tabelle ist insofern sehr interessant, als sie uns, abgesehen von dem Einflusse der Reinkultur auf die Teilungsgeschwindigkeit auch die Bedeutung des Nährsubstrates ganz deutlich illustriert. So erhielt Karsten mit Asparagin-Zuckerernährung entschieden günstigere Resultate als mit Asparagin allein, wie denn überhaupt Karsten mit Hilfe seiner Berechnungsweise bereits gefunden hatte, daß die *N. putrida* alle braunen Verwandten, die *N. dubia* vielleicht ausgenommen, an Teilungsgeschwindigkeit übertrifft und das trotz Schädigung durch Bakterien. Freilich verhalten sich die Werte nur etwa wie 1·02 (*N. Palea*)⁵ zu 3·162 (*N. putrida*) u. a. m.

Bei Anwendung von Reinkulturen schnellt nun der Vermehrungsfuß auf 8, 16·57, 37·76 in die Höhe, Werte, die ohne jeden Kommentar die Bedeutung der Reinkultur auch bei Fragen wie die vorliegende illustrieren. Vergleicht man endlich die Werte nach $\frac{1}{3}$, $\frac{2}{3}$ und $\frac{4}{3}$ Tagen untereinander, so fällt eine gewisse Gesetzmäßigkeit in der Zunahme des Vermehrungsfußes in die Augen, die, wie man unschwer zeigen kann, den eigentlichen Grund erkennen läßt, warum der seinerzeit gefundene Zählwert 1647 dem theoretisch postulierten von 2048 nicht gleich ist, die aber auch die Mittel an die Hand gibt, zu zeigen, daß die Zählung eine sehr genaue und damit die angewandte Methode eine sehr gute gewesen sein muß, die — und das ist wohl das Wichtigste — beweist, daß die ermittelte Teilungsgeschwindigkeit nicht nur um fünf Stunden gelegen, sondern geradezu fünf Stunden gewesen sein muß.

¹ Siehe Kapitel IX, p. 38 [694].

² Siehe Kapitel VIII, p. 36 [692].

³ Siehe Kapitel XX, 5, p. 108 [764].

⁴ Siehe p. 54 [710].

⁵ Karsten G., I, l. c., p. 430.

Die betreffenden Rechnungen sind so frappierend in ihrer Übereinstimmung, daß sie ausführlich wiedergegeben werden mögen:

Nach 1 Tage wurden gezählt 13 Individuen; theoretisch gefordert waren 16 Individuen
 » weiteren $\frac{4}{3}$ Tagen » » 1647 » » » 2048 »

$\frac{\log 1647 - \log 13}{\frac{4}{3}} = 1.577061$	$\frac{\log 2048 - \log 16}{\frac{4}{3}} = 1.58040$												
<table style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 50%; border-right: 1px solid black;">log 1647</td> <td style="width: 50%;">3.21669</td> </tr> <tr> <td style="border-right: 1px solid black;">-log 13</td> <td>1.11394</td> </tr> <tr> <td style="border-right: 1px solid black;"></td> <td style="border-top: 1px solid black;">2.10275 : 4</td> </tr> </table>	log 1647	3.21669	-log 13	1.11394		2.10275 : 4	<table style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 50%; border-right: 1px solid black;">log 2048</td> <td style="width: 50%;">3.31133</td> </tr> <tr> <td style="border-right: 1px solid black;">-log 16</td> <td>1.20412</td> </tr> <tr> <td style="border-right: 1px solid black;"></td> <td style="border-top: 1px solid black;">2.10721 : 4</td> </tr> </table>	log 2048	3.31133	-log 16	1.20412		2.10721 : 4
log 1647	3.21669												
-log 13	1.11394												
	2.10275 : 4												
log 2048	3.31133												
-log 16	1.20412												
	2.10721 : 4												
0.525687 . 3 =	0.52680 . 3 =												
= 1.577061	= 1.58040												
W = 37.76	W = 38.054												

Das heißt aber soviel als: Die Diatomeen haben sich während des zweiten Versuchstages mit der Teilungsgeschwindigkeit von fünf Stunden völlig regelmäßig geteilt und der niedere Wert von 1647 ist auf die Verspätung der Teilung am ersten Tage zurückzuführen.

Was nun wieder der Grund dieser Verspätung war, das entzieht sich vorläufig unserer Erkenntnis. Doch brauchen wir zur Erklärung nur anzunehmen, daß aus irgendwelchen Gründen nach 15 Versuchsstunden, bei der dritten Teilung also, bei der normalerweise hätten 8 Individuen entstehen sollen, eines unterdrückt worden sei, somit bloß 7 gebildet worden wären, die bei der nächsten Teilung 14 geliefert hätten. Wäre nun eines im Moment der Zählung mit der Teilung noch nicht fertig gewesen, so hätte es als Doppelindividuum gezählt werden müssen, wodurch die am 24. November 1906, 10 Uhr vormittags, festgestellte Zahl 13 erklärt wäre, die nun die Basis für die weiteren Teilungen gebildet haben muß.

Knüpfen wir an die Darstellung der p. 58 [714] an, so gab es

nach 20 Stunden	13 Individuen, die	
» 25	» 26	»
» 30	» 52	»
» 35	» 104	»
» 40	» 208	»
» 45	» 416	»
» 50	» 832	»
» 55	» 1664	»

hätten geliefert haben müssen; gezählt wurden 1647 Diatomeen, ein Ergebnis, von dem gewiß nicht zuviel vorausgesagt war, wenn erklärt wurde, es stelle die Anwendbarkeit des Pfitzer-Mac Donald'schen Gesetzes auf unsere Diatomee außer Zweifel, bekräftige die Tatsache von der fünfständigen Lebensdauer der Diatomee unter den gegebenen Verhältnissen und beweise die Brauchbarkeit der verwendeten Zählmethode aufs schlagendste.

Dieses Ergebnis beweist aber auch gleichzeitig die Brauchbarkeit der von Karsten empfohlenen Formel für den Vermehrungsfuß, so daß das genannte Gesetz und diese Formel, die an sich nichts mit einander zu tun haben, beide für die Bestimmung der Vermehrung zunächst unserer Diatomee zu Recht bestehen.

Die an der *Nitzschia putrida* durchgeführte Ableitung des Pfitzer-Mac Donald'schen Gesetzes gewinnt, wenn man überhaupt von einem Spezialfall auf die Allgemeinheit schließen darf, noch ein erhöhtes allgemeines Interesse. Durch die kaum gehoffte Übereinstimmung zwischen den theoretisch

postulierten und den praktisch gefundenen Werten ist nämlich eine neue wesentliche Stütze für die Gültigkeit des angeführten Gesetzes geschaffen worden. Pfitzer¹ selbst hat insbesondere durch Heranziehung der häufig eintretenden Auxosporenbildung und durch den Hinweis darauf, daß sie von den kleinsten Individuen ausgehe, seine Hypothese zu stützen gesucht. Nun hat aber Miquel² gezeigt, daß die Auxosporenbildung nicht notwendig mit der vorgeschrittensten Längenverminderung zusammenhängt, sondern daß bei der *N. Palea* gerade solche Individuen Auxosporen bildeten, die noch lange nicht die kleinsten waren. Damit schien aber eine von Pfitzer selbst gebrachte wesentliche Stütze seiner Ansicht unsicher gemacht. Und darum glaubte ich die Beziehungen der vorstehenden Beobachtungen an der *N. putrida* »zur allgemeinen Auffassung der Entwicklungsgeschichte der Bacillariaceen«¹ charakterisieren zu sollen, denn nach Miquel's³ mühevollen Messungen, die im folgenden Abschnitt noch gewürdigt werden, sind die Befunde an der *N. putrida* der erste Fall, wo mit Zählung und Messung ohne beirrende Nebenfaktoren, wie Schädigung durch Bakterien etc., an einer in völliger Reinzucht befindlichen Diatomee die MacDonalD-Pfitzer'schen Probleme überprüft worden sind.

2. Die Bestimmung der vorherrschenden Länge der Diatomeen nach einer bestimmten Anzahl von Impfungen.

Früher⁴ wurde erörtert, daß man imstande sei, auf Grund der Gültigkeit des Pfitzer-MacDonalD'schen Gesetzes zu berechnen, wie viele Individuen der Länge $A, A_1, A_2, A_3 \dots A_n$ in einer Kolonie bei Flüssigkeitskulturen, in die nur eine einzige Diatomee eingetragen wurde, und wie viele Individuen der betreffenden Längen in der ganzen Kultur vorhanden sein mögen.

Miquel⁵ hat nun unstreitig das Verdienst, das Pfitzer'sche Gesetz durch mühsame Zählungen an *Nitzschia linearis* zum ersten Male fundiert zu haben. Die verwendete Kultur war recht »rein« (!), abgesehen von einigen kugeligen Grünalgen.

»L'espèce est rigoureusement pure;... Notons, seulement, dans la macération la présence de quelques petites algues vertes globulaires en croissants et en fuseaux.«

Nach 40 Tagen wurde die Kultur unterbrochen, die überstehende Flüssigkeit vorsichtig dekantiert, der Bodensatz mit Salzsäure vorsichtig gewaschen und auf 20 dünne Plättchen aufgetragen, um nach dem allmählichen Trocknen die Diatomeen in Kanadabalsam einzubetten. Bei den nun folgenden Zählungen konnten Diatomeen der Längen von

39	39·5	40	40·5	41	41·5	42	42·5	43	43·5	Teilstrichen
1	12	64	91	260	284	219	51	16	2	

des verwendeten Mikrometerokulars nachgewiesen werden in Mengen, wie sie durch die unter den Teilstrichangaben stehenden Zahlen dargestellt sind. Man erkennt sofort, daß sie in ihrer Aufeinanderfolge dem durch die Natur der Koeffizienten des binomischen Lehrsatzes geforderten symmetrischen Bau entsprechen mögen. Dabei stammte das Impfmaterial aus Kulturen mit den vorherrschenden Längen von 44 und 44·5 Teilstrichen. Doch war nicht mit Sicherheit von einer einzigen Diatomee ausgegangen worden.

»Une macération d'eau douce stérilisée reçoit par le procédé du fractionnement un ou deux frustules, au plus, de la Diatomée appelée *Nitzschia linearis*.«⁶

¹ Pfitzer E., Unters. über Bau und Entwicklung etc., I. c., p. 155.

² Miquel P., Octobre — Novembre 1892, I. c., p. 26. Vgl. auch die Fußnote 2 auf p. 67 [723].

³ Miquel P., I. c., p. 12.

⁴ Siehe Kapitel XIII, 1, p. 53 [709].

⁵ Miquel P., I. c., p. 12.

⁶ Miquel P., I. c., p. 11.

Da ich nun wiederholt das Glück hatte, ein einziges Individuum der *N. putrida* auf ein neues Nährsubstrat übertragen zu können, konnte also auch der Frage nach der vorherrschenden Länge in der Kolonie mit entsprechend weitgehender Genauigkeit beigegeben werden.

Es wurde bereits mitgeteilt, daß im Dezember 1906 ganz plötzlich in einer Kultur der Var. *longa* eine winzige farblose *Nitzschia* auftrat, die auch reingezüchtet werden konnte und als Var. *nanella* beschrieben wurde.

In einem Sektor einer Kolonie dieser Diatomee wurden am 26. Jänner 1907 nach etwa $2\frac{1}{3}$ Tagen 1540 Individuen gezählt, so daß man die Gesamtzahl Diatomeen der Kolonie mit 12.320 (1540.8) einschätzen durfte.

Die Zahl 12.320 liegt zwischen 8192 und 16.384 oder zwischen 2^{13} und 2^{14} , so daß man unter Voraussetzung gleicher Teilungszeiten und unter Zugrundelegung der Stundenzahl 5 als Teilungsdauer zu dem Schlusse käme, daß die Diatomeen eben die 13. Teilung beendet hatten und in der 14. Teilung begriffen waren, als die Zählung stattfand.

Die Theorie erforderte die Individuen: A, A_1, A_2, A_3 usf. bis A_{13} , von denen A_6 und A_7 in der Kultur in der größten Individuenzahl vertreten sein mußten, wenn die Kolonieentwicklung in normaler Weise vor sich ging.

Nach der früher angeführten Formel ist

$$A_6 = A - 6 \cdot 2\gamma = A - 6 \cdot 2 \cdot 0 \cdot 2 = A - 6 \cdot 0 \cdot 4,$$

$$A_7 = A - 7 \cdot 2\gamma = A - 7 \cdot 2 \cdot 0 \cdot 2 = A - 7 \cdot 0 \cdot 4,$$

da $\gamma = 0 \cdot 2 \mu$ gemessen wurde.¹ $A_6 = A - 2 \cdot 4$; $A_7 = A - 2 \cdot 8$; nun war $A = 16 \mu$, daher sind die theoretisch geforderten Werte für die vorherrschenden Längen in unserer Kultur

$$\underline{A_6 = 13 \cdot 6 \mu \text{ und } A_7 = 13 \cdot 2 \mu.}$$

Die am Tage der Zählung durchgeführten Messungen ergaben:

Individuen der Länge	16 μ	8.33%
» » »	15 »	33.33 »
» » »	14.4 »	20.8 »
» » »	14 »	33.33 »
» » »	13 »	4.16 »

Es waren also die Längen 14 und 15 μ am meisten vertreten.

Wie man sieht, unterscheiden sich diese Werte von den geforderten nur um Bruchteile eines Mikrons, im äußersten Falle um $1 \cdot 8 \mu$, was noch nicht über den Rahmen, den die Fehlerquellen bestimmen, hinausgeht. Somit kann auch der Befund über die Bestimmung der vorherrschenden Länge der Diatomeen einer Kolonie mit Vorteil dazu herangezogen werden, die Gültigkeit des Pfitzer-Mac Donald'schen Gesetzes für die farblose Diatomee zu erweisen.

Es wäre nun gewiß von nicht geringer Bedeutung für die Einsicht in die Geschwindigkeit der Längenverminderung und in die Physiologie der Diatomee, wenn man es in die Hand bekäme, etwa mit Hilfe einer Formel die vorherrschende Länge in einer Kolonie nach einer bestimmten Anzahl von Impfungen vorauszusagen. Der Experimentator wäre dadurch in den Stand gesetzt, die Zeit, wann er die

¹ Die von Miquel (l. c., p. 3) angebrachte Korrektur, die darauf hinweist, daß mit dem Kleinerwerden der Diatomee auch die Gürtelbanddicke um Bruchteile kleiner wird, habe ich wegen der bei der *Nitzschia putrida* auch nicht einmal schätzbaren Größen unberücksichtigt gelassen. Miquel drückt seine Ansicht durch die Formel $x = \frac{a-a_1}{n}$ aus. Vgl. p. 66 [722].

Diatomee bis zur Grenze der Teilungsmöglichkeit bringen dürfte, mit ziemlicher Genauigkeit auszurechnen, und wäre somit in der Lage, vielleicht zu der Zeit eintretende Gestaltveränderungen aus inneren Ursachen gleich von ihrem ersten Beginne mit der Aufmerksamkeit des Erwartungsvollen zu betrachten und in ihrer Entwicklung zu verfolgen, ohne von extrem ausgebildeten Formabweichungen überrascht zu werden, deren Bindeglieder ihm fehlen.

Eine solche Formel läßt sich nun tatsächlich finden. Wir wollen sie zunächst theoretisch ableiten und dabei auf das schon früher¹ angeführte Schulbeispiel $(1+1)^6$ zurückgreifen.

Die Zahl und Art der Individuen waren:

$$A+6A_1+15A_2+20A_3+15A_4+6A_5+A_6.$$

Das sind zusammen 64 Individuen, also gewiß eine Kolonie, von der bereits abgeimpft werden könnte.

Welche Individuen hätten wohl in diesem Falle die größte Wahrscheinlichkeit für sich, überimpft zu werden? Sicherlich die, die in der größten Zahl in der sechsten Potenz des Binoms $(1+1)^6$ auftreten, also A_2 , A_3 und A_4 , allen voran A_3 (oder B).

Liefere nun die Individuen der Länge B im neuen Substrat wieder Kolonien von 64 Diatomeen, so würden diese lauten:

$$B+6B_1+15B_2+20B_3+15B_4+6B_5+B_6,$$

in denen wieder B_3 (oder C) die größte Wahrscheinlichkeit für sich hat, an der Impfnadelspitze hängen zu bleiben und übertragen zu werden.

C liefert unter den gleichen Umständen bei der nächsten Impfung

$$C+6C_1+15C_2+20C_3+15C_4+6C_5+C_6,$$

wobei wiederum C_3 im Vorteil ist usf.

Da nach Analogie zur Bestimmung von A_1 ²: $C_1 = C - 2\gamma$, ist

$$C_3 = C - 3 \cdot 2\gamma;$$

da $C = B_3 = B - 3 \cdot 2\gamma$, ist

$$C_3 = B - 2 \cdot 3 \cdot 2\gamma; \text{ und da}$$

$$B = A_3 = A - 3 \cdot 2\gamma, \text{ ist}$$

$$C_3 = A - 3 \cdot 3 \cdot 2\gamma,$$

woraus sich folgern ließe, daß für den gegebenen Fall die vorherrschende Länge in den Kolonien der III. Impfung gefunden würde, wenn man von der ursprünglichen Länge der Diatomee die neunfache doppelte Schalendicke abzieht.

Der Ausdruck $A - 3 \cdot 3 \cdot 2\gamma$ entspricht aber auch dem $A_9 = A_{3,3}$, woraus sich unschwer die folgende Reihe ableiten läßt:

I. Impfung	A_3	$=$	$A - 3 \cdot 2\gamma$
II. »	$A_{2,3}$	$=$	$A - 2 \cdot 3 \cdot 2\gamma$
III. »	$A_{3,3}$	$=$	$A - 3 \cdot 3 \cdot 2\gamma$
IV. »	$A_{4,3}$	$=$	$A - 4 \cdot 3 \cdot 2\gamma$
V. »	$A_{5,3}$	$=$	$A - 5 \cdot 3 \cdot 2\gamma$
VI. »	$A_{6,3}$	$=$	$A - 6 \cdot 3 \cdot 2\gamma$
n	»	$A_{n,3}$	$= A - n \cdot 3 \cdot 2\gamma$. ³

¹ Siehe p. 53 [709].

² Siehe p. 53 [709].

³ Das ist derselbe Ausdruck, wie er im Jahre 1906 (Richter Oswald, III, l. c., p. 280) und in Richter Oswald, Die Bedeutung der Reinkultur, l. c., p. 10 veröffentlicht wurde. Daß er noch nicht allgemein genug gefaßt war, zeigen die weiteren Ausführungen.

Man findet somit unter der Voraussetzung, daß man sich die Mühe nimmt, nach je 30 Stunden abzuimpfen, die vorherrschende Länge der Diatomeen irgendeiner Impfung nach dem Ausdrucke:

$$\underline{A_{3n} = A - 3n \cdot 2\gamma,}$$

wobei n die Zahl der Impfung, A_{3n} die vorherrschende Länge der Diatomeen der n ten Impfung beim Abimpfen nach je 30 Stunden, A die ursprüngliche Länge und γ die Dicke der Diatomeenschale darstellt.

Läßt man die Kolonien aber größer werden, ehe man abimpft, wartet man z. B. 55 Stunden wie in dem früher¹ mitgeteilten Falle, dann sind A_5 und A_6 die vorherrschenden Längen der Ausgangskultur, oder überimpft man von 60 zu 60 Stunden, dann nimmt, der Größe der Kultur entsprechend, die in den Tochterkolonien vorherrschende Länge auch bedeutend rascher ab.

In $(1+1)^{12}$ ist A_6 die meist vertretene Länge und mit der größten Wahrscheinlichkeit ausgerüstet, übertragen zu werden. Danach ergibt sich bei neuerlichem Abimpfen nach je 60 Stunden die folgende Reihe:

$$\begin{array}{ll} \text{I. Impfung} & A_6 = A - 6 \cdot 2\gamma \\ \text{II. } & \text{»} \quad A_{2.6} = A - 2 \cdot 6 \cdot 2\gamma \\ \text{III. } & \text{»} \quad A_{3.6} = A - 3 \cdot 6 \cdot 2\gamma \\ \underline{n} & \text{»} \quad \underline{A_{n.6} = A - n \cdot 6 \cdot 2\gamma.} \end{array}$$

Für A_5 als vorherrschende Länge der ersten Impfung und bei gleicher Entwicklungszeit für die Kultur lautet die entsprechende Reihe:

$$\begin{array}{ll} \text{I. Impfung} & A_5 = A - 5 \cdot 2\gamma \\ \text{II. } & \text{»} \quad A_{2.5} = A - 2 \cdot 5 \cdot 2\gamma \\ \text{III. } & \text{»} \quad A_{3.5} = A - 3 \cdot 5 \cdot 2\gamma \\ \underline{n} & \text{»} \quad \underline{A_{n.5} = A - n \cdot 5 \cdot 2\gamma.} \end{array}$$

oder ganz allgemein ausgedrückt:

$$\begin{array}{ll} \text{I. Impfung} & A_m = A - m \cdot 2\gamma \\ \text{II. } & \text{»} \quad A_{2m} = A - 2m \cdot 2\gamma \\ \text{III. } & \text{»} \quad A_{3m} = A - 3m \cdot 2\gamma \\ \underline{n} & \text{»} \quad \underline{X = A_{n.m} = A - n \cdot m \cdot 2\gamma.} \end{array}$$

In dieser Formelfolge bedeutet somit A die ursprüngliche Länge der geimpften Diatomee; m ist der Index von A_m , der vorherrschenden Länge der Ausgangskolonie für die folgenden Impfungen, I, II, III... n die Zahl der Impfungen, γ die Dicke der Diatomeenschale und $X = A_{mn}$ die gesuchte Größe, die vorherrschende Länge nach n Impfungen.

Aus diesem Ausdrucke geht zunächst hervor, daß die Raschheit der Verkleinerung in erster Linie zurückzuführen ist auf die Zahl der durchgeführten Impfungen, wenn sonst die gleiche Zeit zwischen den Abimpfungen eingehalten wird. In zweiter Linie ist die zu erwartende vorherrschende Länge irgendeiner späteren Impfung abhängig von der vorherrschenden Länge der I. Impfung und so indirekt abhängig von der Zeit, aber, wie wir gleich hören werden, von dieser nur in beschränktem Maße. Die früher angenommenen Beispiele haben es ja sattsam illustriert, daß bei Verschiebung der I. Abimpfung um einige Stunden die Kolonie weiter herangewachsen ist, ihre mittlere Länge also in den Kolonien der I. Impfung kleiner geworden und dadurch die zu erwartende mittlere Länge nach n Impfungen auch entsprechend herabgedrückt sein muß. Trotzdem ist, wie gesagt, die Zeitfrage nur von beschränkter Bedeutung, weil sie bei alten Kulturen gar keine Rolle mehr spielt. Die farblosen Diatomeen verhalten sich nämlich in der Beziehung wie ihre braunen Verwandten, wie Grünalgen und Bakterien: haben ihre

¹ Siehe p. 58 [709].

Kolonien eine gewisse Größe erreicht, so wachsen sie nicht mehr weiter, offenbar wegen der Anhäufung schädlicher Stoffwechselprodukte in der Kolonie, die hemmend wirken.¹

Es braucht wohl kaum noch eigens betont zu werden, daß die Länge der ersten geimpften Diatomee und deren Schalendicke auch von ausschlaggebender Bedeutung sind, wobei nochmals auf Miquel's² Bemerkung von dem sukzessiven Kleinerwerden der Schalendicke verwiesen sein mag, womit Miquel gewiß einen Faktor betont, der der rapiden Verkleinerung entgegenarbeiten dürfte.

Nimmt man nämlich die Dicke des Gürtelbandes mit Miquel gleich $\frac{a}{2}(\gamma)$ und die Verkleinerungsgröße der ganzen Schale gleich $a(2\gamma)$, so läßt sich mit Hilfe einer arithmetischen Progression

$$a, a-x, a-2x \dots a-nx$$

finden, wie groß diese Verminderung nach n Generationen ist, wobei x die Verminderung bedeutet.

Um diese supponierte Konstante x , die natürlich verschwindend klein sein muß, zu erhalten, verfährt Miquel in der Art, daß er die Differenz der Schalendicken zweier durch eine Reihe von n Teilungen getrennter Diatomeen bildet und durch die Teilungszahl dividiert. Danach ist

$$x = \frac{a-a_1}{n}.$$

Ich gebe zu, daß dieser Dickenverminderungsfaktor theoretisch gewiß eine Rolle spielt und daß bei starkschaligen großen Diatomeen auch unschwer die Größen a und a_1 festgestellt werden können; bei der farblosen Diatomee aber ist es schon eine Kunst, die Dicke des Gürtelbandes zu bestimmen — 0.2μ liegt ja knapp an der Grenze des mikroskopischen Auflösungsvermögens³ —, wo kann man da mit Sicherheit Unterschiede in den Gürtelbanddicken angeben. Es kann also ohne weiteres der Dickenverminderungsfaktor in der Bewertung von γ unberücksichtigt bleiben und damit an der Formel

$$\underline{X = A_{nm} = A - n \cdot m \cdot 2\gamma}$$

festgehalten werden.

Ein Beispiel mag die Brauchbarkeit der Formel illustrieren.

Die am 22. November geimpfte Urahne hatte, mit Reichert 3, II und Reichert's Okularmikrometer des Sterilbleibens wegen durch den Petrischalenboden und das Agar gemessen, eine Länge von 48.9μ .

Am 24. November befanden sich die Diatomeen nach den früheren Ausführungen zur Zeit der Zählung in der 11. Teilung, wonach sich als theoretisch postulierte vorherrschende Längen $A_5 = A - 10\gamma = 46.9 \mu$ und $A_6 = A - 12\gamma = 46.5 \mu$ ergaben.

Am 24. November wurde von dieser Kultur abgeimpft, deren Individuen mit der $1/12$ Immersion von Reichert und dem Reichert'schen Mikrometerokular Nr. 6 gemessen wurden.

Die gemessenen Längen waren:

	46	μ	mit	20.83%	
	45	»		8.33	»
44.2	{	44.4	»	12.5	»
		44.2	»	4.16	»
		44	»	45.83	»
		43	»	4.16	»
	40	»		4.16	»
					62.49%

woraus hervorgeht, daß die Länge von 44μ mit 45.83% , beziehungsweise eine mittlere Länge von 44.2μ mit 62.49% am reichlichsten vertreten war.

¹ Vgl. p. 59 und 60 [... und ...].

² Miquel P., Octobre-Novembre 1892, l. c., p. 3. Vgl. p. 63 und 103 [719 und 759].

³ Siehe Molisch H., Über Ultramikroorganismen. Bot. Zeitg., 1908, 66. Jg., p. 131.

Es handelte sich dabei um die zweite Impfung; n war 2; m , der Index der vorherrschenden Länge der ersten Impfung war 6 oder 5, woraus sich für $X = A_{nm} = A - n \cdot m \cdot 2\gamma$ die Werte

$$\begin{array}{ll} A_{2.5} = A - 2 \cdot 5 \cdot 2\gamma & \text{oder} & A_{2.6} = A - 2 \cdot 6 \cdot 2\gamma \\ A_{2.5} = A - 20 \cdot 0.2 & & A_{2.6} = A - 24 \cdot 0.2 \\ A_{2.5} = 48 \cdot 9 - 4 & & A_{2.6} = 48 \cdot 9 - 4 \cdot 8 \\ \underline{A_{10} = 44 \cdot 9 \mu} & & \underline{A_{12} = 44 \cdot 1 \mu} \end{array}$$

ergeben.

Zu den gleichen Werten gelangt man, wenn man von den schon berechneten Werten $A_5 = 46 \cdot 9 \mu$ und $A_6 = 46 \cdot 5 \mu$ ausgeht. Es ist

$$\begin{array}{ll} A_{10} = A_5 - 5 \cdot 2\gamma & \text{und} & A_{12} = A_6 - 6 \cdot 2\gamma \\ A_{10} = 46 \cdot 9 - 2 & & A_{12} = 46 \cdot 5 - 2 \cdot 4 \\ \underline{A_{10} = 44 \cdot 9 \mu} & & \underline{A_{12} = 44 \cdot 1 \mu} \end{array}$$

Es braucht wohl kaum eigens auf die Übereinstimmung der faktisch gefundenen Werte von $44 \cdot 2$, beziehungsweise 44μ und dem theoretisch postulierten von $44 \cdot 1 \mu$ hingewiesen zu werden.

Die früher mitgeteilte Formel für die Bestimmung der vorherrschenden Länge einer Kolonie

$$\underline{X = Anm = A - n \cdot m \cdot 2\gamma}$$

ist nun sehr geeignet, die fabelhaft rasche Verkleinerung der Diatomee bei Anwendung des normalen Vorganges bei der Reinzucht von Mikroorganismen, des Überimpfens mit der Nadel, zu illustrieren.

Nehmen wir an, m wäre gleich 6, es würde also nach je 60 Stunden eine neue Ausgußkultur gemacht werden, deren Kolonien sich von einer ersten mit der mittleren Länge A_6 ableiten würden und nehmen wir weiter an, daß sich jedesmal jede Kolonie aus je einer Diatomee ableite und daß $A = 48 \mu$ wäre, so wäre die vorherrschende Länge nach zehn Impfungen bereits halb so groß und nach der 20. Impfung bereits Null.

$$\begin{array}{l} X_1 = A_{10.6} = 48 - 10 \cdot 6 \cdot 2 \cdot 0.2 = 48 - 24 = 24 \mu \\ X_2 = A_{20.6} = 48 - 20 \cdot 6 \cdot 2 \cdot 0.2 = 48 - 48 = 0 \end{array}$$

Danach wäre also nach der 20. Impfung die Diatomee der theoretisch postulierten Länge überhaupt nicht mehr vorhanden und es müßten notgedrungen, falls sich nicht andere Vorgänge abgespielt haben,¹ die Diatomeen größerer Länge die Aufgabe der Fortpflanzung übernehmen, wenn die Art als solche nicht verloren gehen soll.²

Ich möchte hier hinzufügen, daß auch die durch Miquel³ betonte Verzögerung der Verkleinerung bei unserer Diatomee wegen der Dünne des Gürtelbandes nicht wesentlich ins Gewicht fallen kann, daß

¹ Siehe Kapitel XIX, p. 91 [747].

² Die Annahme einer derartigen Substitution wäre um so weniger von der Hand zu weisen, als man auf gewisse Literaturstellen verweisen könnte, wo derartiges bereits behauptet wird. Vgl. Müller O., l. c. und Miquel P., l. c., p. 26. »On y remarque que la taille moyenne des Nitzschies décroît d'une façon très sensible jusqu'à la neuvième culture; à ce moment, non seulement les Diatomées ne décroissent pas, mais leur taille moyenne augmente, ce qui tient à ce que la division des microfrustules extrêmes est suspendue, et que pendant ce temps les microfrustules de taille supérieure continuent à se diviser. La loi du binôme se trouve alors inappliquée, puisque les frustules de taille extrêmement petite sont incapables de se dédoubler.«

³ Miquel P., l. c., p. 3.

sie uns aber vielleicht das Verständnis näher rückt, warum schließlich die Diatomeenplasmen ihre Hüllen zu sprengen beginnen und als nackte Plasmodien¹ ein neues vereinigt Dasein führen.

Die eben erfolgte Erörterung über die theoretisch geforderte, tatsächlich unmögliche Größe 0μ als Länge der Diatomee führt uns zur Erörterung der Grenzen der Anwendbarkeit der aufgestellten Formel

$$\underline{X = A_{mn} = A - m \cdot n \cdot 2\gamma.}$$

Zunächst darf nie übersehen werden, daß eine derartige Formel immer in erster Linie der Theorie zu dienen hat; wenn sie dabei, wie oben gezeigt wurde, auch ihre praktische Anwendbarkeit beweist, um so besser. Und da ist nun vor allem etwas nicht zu vergessen, daß es der Experimentator nicht in der Hand hat, gerade nur Individuen der einen Art von einer Kolonie abzuimpfen; es werden daher in der Regel außer den Individuen der vorherrschenden Länge auch solche auf der Nadelspitze oder dem beim Impfen übertragenen Agarstückchen hängen bleiben, die größer oder kleiner sind als die der vorherrschenden Länge. Es muß daher dann folgerichtig die Verkleinerung der Diatomee im ersten Falle etwas verzögert, im zweiten etwas beschleunigt werden.

Ebenso kann es der Zufall wollen, daß alle anderen Individuen etwa deshalb, weil sie zu tief ins Agar geraten sind und wegen Sauerstoffmangels in der Entwicklung gehemmt wurden, es nicht bis zur deutlichen Koloniebildung bringen, von der Überimpfung ausgeschlossen werden und nur ein oberflächlich gelegenes von ganz anderer als der in der Abimpfungskolonie meist vertretenen Größe zur reichlichen Teilung und zur Koloniebildung gelangt.

Es ist klar, daß durch diese jeder Wahrscheinlichkeitsrechnung spottende Verkettung der äußeren Umstände eine Ausschaltung der Anwendbarkeit der Formel für diesen Spezialfall, und zwar nur für diese Impfung verzeichnet werden muß. Denn so wie die Kolonie gebildet, von ihr abgeimpft und die neue vorherrschende Länge bestimmt ist, kann die Formel nach wie vor in ihre Rechte treten; denn selbst bei der Bestimmung der neuen mittleren Länge wird sie nicht versagen, wenn man als A_m die durch die äußeren Umstände erhaltene und bevorzugte Länge einsetzt.

Fälle dieser Art von Ausnahmen werden immer zahlreicher an der unteren Grenze der Teilungsmöglichkeit vorkommen² müssen, und zwar solche, wo größere Individuen die Rolle derer mittlerer Größe übernehmen. Umgekehrt werden, je öfter solche zufällige Bevorzugungen kleinerer Individuen bei den noch ziemlich langen Diatomeen vorkommen, die farblosen Nitzschien desto rascher ihrer durch innere Ursachen bedingten Einstellung der Teilungstätigkeit zusteuern.

Da nun die genannten Fälle Ausnahmen und die erst erwähnten sogar nicht einmal häufige Ausnahmen von der Regel sind, wird man trotz dieser durch die Erfahrungen der Praxis gebotenen Vorsicht doch sagen können, daß man in der Regel nicht fehlgehen wird, wenn man die vorherrschende Länge der Kolonien irgendeiner der späteren Impfungen berechnet nach der p. 65 auseinandergesetzten Formel

$$\underline{X = A_{nm} = A - nm \cdot 2\gamma.}$$

3. Das Gesetz von der Erhaltung des Volums bei der Teilung der *Nitzschia putrida* Benecke.

Bei der Fülle von farblosen Diatomeen der verschiedensten Abimpfungen und des verschiedensten Alters, die mir unter die Augen kamen, mußte es mir schließlich auffallen, daß die Individuen der späteren Abimpfungen nicht nur kürzer, sondern gleichzeitig nicht unbeträchtlich dicker waren als die Individuen, welche ursprünglich abgeimpft wurden (vgl. Fig. 21, 15 und 17, Taf. IV).

Einmal darauf aufmerksam, schenkte ich diesem Dickerwerden der *Nitzschia putrida* besondere Aufmerksamkeit und versuchte messend und rechnerisch der Sache nachzugehen. Von der Fülle von

¹ Siehe Kapitel XIX, p. 97 und 103 [753 und 759].

² Vgl. die umstehend zitierte Stelle aus Miquel P., l. c., p. 26.

Messungen mag eine Auswahl mitgeteilt werden, die das Substrat für die am Ende dieses Abschnittes angeführten Schlüsse abgeben soll.

Die Messungen wurden in der Regel mit Reichert's Ölimmersion $1/12$ und dessen Mikrometerokular 6, einmal auch mit der Kombination 7a, Mikrometerokular 6 und in einer größeren Anzahl von Fällen mit Reichert's Objektiv 7a und dessen Okular II mit eingelegtem Okularmikrometer ausgeführt. Die Art des Vorganges beim Messen soll neben den erhaltenen Werten durch die Ausdrücke [$1/12$ J, 6], [7a, 6] und [7a, II] angedeutet werden.

Messungen der *Nitzschia putrida* finden sich in der Literatur bereits verzeichnet. Nach Provazek¹ betrug die Länge der von ihm als *Synedra hyalina* bezeichneten, von Benecke² für möglicherweise identisch mit *N. putrida* gehaltenen farblosen Diatomee 0·040—0·037 mm, ihre Breite (Gürtelbandansicht) 0·0034 mm.

Nach Benecke³ läßt sich die Länge der *N. putrida* aus dem Kieler Schlick »mit durchschnittlich 60 bis 70 μ , in maximo 100 μ « angeben. »Die mit dem Alter der Zelle natürlich zunehmende »Breite« (Länge der Pervalvarachse) ist in ihrem Verhältnis zur Länge der Apicalachse aus den verschiedenen Figuren«, die Benecke seiner Arbeit beigab, »zu entnehmen«.

So ergeben sich aus seinen Figuren:

13. (Normales Exemplar. Leerer Panzer von der Gürtelseite) bei 1.600facher Vergrößerung	79 μ für die Länge,	4·5 μ für die Breite.
14. (Id. von der Schalseite)	» 1.600 »	» 71 μ » » » 4·4 μ » » »
15. (Id. in der Gürtellage)	» 1.700 »	» 87 μ » » » 6·1 μ » » »
16. (Id. von der Gürtelseite während der Teilung)	» 1.600 »	» 92·5 μ » » » 7·5 μ » » »

Aus Benecke's Angaben möchte ich endlich noch hervorheben, daß er den Apikalschnitt als rechteckig⁴ bezeichnet, weil ich öfters Gelegenheit hatte, bei den länger gezüchteten Diatomeen völlig quadratische Apikalschnitte wahrzunehmen. Aber selbst bei der Var. *gigas* und der Var. *longa* sind die Rechtecksseiten des Apikalschnittes so wenig voneinander verschieden, daß man gewiß keinen größeren Fehler begeht, wenn man auch sie als untereinander gleich annimmt. Diese Annahme liegt den folgenden Ausführungen zugrunde. Ich möchte übrigens darauf hinweisen, daß die aus Benecke's Figuren 13 und 14 berechneten Breitenwerte der Gürtelband- und der Schalenansicht = 4·5 und 4·4 μ kaum wesentlich voneinander abweichen.

Aus der Arbeit von Karsten⁵ entnehme ich endlich folgende Größenangaben:

»Die gefundene farblose *Nitzschia putrida* wechselt in ihrer Größe von 26—53 μ : 3 μ ; die meisten Individuen zeigten eine Länge von ca. 45 μ , also der oberen Grenze etwas näher als der unteren.«

Nach Karsten's Überzeugung »handelt es sich um ein und dieselbe Form, welche Provazek, Benecke (*N. putrida*)« und er vor sich »hatten, die Größenunterschiede« ihrer »Angaben von 26 μ bis 100 μ gehen nicht über das durch Auxosporenbildung ausgleichbare Maß hinaus. Die Form wäre also wohl als *N. putrida* (F. Cohn) Benecke zu bezeichnen« gewesen.

Es mögen nun meine Messungen und Berechnungen in Tabellenform folgen, wozu nur noch bemerkt zu werden braucht, daß die in der Tabelle angeführten Längen- und Breitenangaben stets Mittelwerte von einer Anzahl Messungen, in der Regel von 10 bis 24 Einzelmessungen darstellen, und daß für die Volumsberechnung bei parallelepipedischer Ausbildung der Diatomee die Formel $V = a^2h$, bei trapezförmiger Gürtelbandansicht wie bei der Var. *gomphonemiformis* die Formel für den Pyramidenstumpf mit quadratischen Endflächen $V = (A^2 + \sqrt{AB} + B^2) \frac{h}{3}$ in Anwendung kamen.

¹ Provazek S., l. c., p. 69.

² Benecke W., l. c., p. 539 u. 544.

³ Benecke W., l. c., p. 542.

⁴ Benecke W., l. c., p. 544 u. 545. Von Verbreiterungen, Aufbauchungen in der Mitte der Diatomee, die Benecke verzeichnet, wird später die Rede sein. Siehe Kap. XIX., p. 94 [750].

⁵ Karsten G., l. c., p. 425.

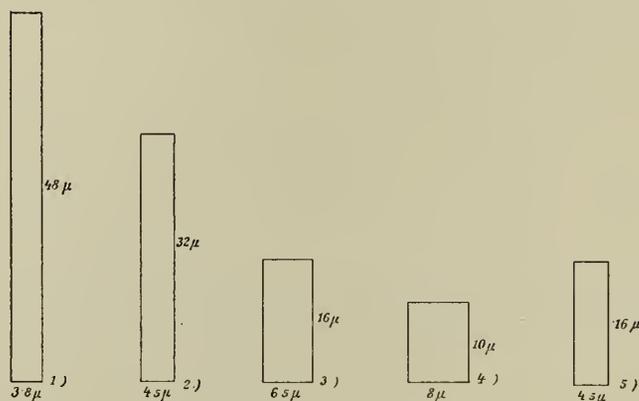
Aus der Tabelle 7, p. 72 bis 75 [228 bis 231] geht zunächst unzweideutig hervor, daß proportional zur Längenverminderung eine deutliche Dickenzunahme festgestellt werden kann, die durch einige graphische schematische Darstellungen anschaulich gemacht, ohne viele Schwierigkeiten zur Annahme der Konstanz des Volums bei der Teilung hinüberleitet.

Schematische Darstellung des Gesetzes von der Konstanz des Volumens bei der Teilung der farblosen Diatomee.

(1000fache Vergrößerung.)

Unter Zugrundelegung der in der Tabelle 7 verzeichneten Werte entworfen bei gleichzeitiger Korrektur der mit der Messung insbesondere der Breiten verbundenen Fehlerquellen.

Fig. 4.



1. Var. *gigas* : $V = 693 \cdot 12 \mu^3$.

2. Var. *longa* : $V = 648 \mu^3$.

3. Var. *naviculaeformis* : $V = 676 \mu^3$.

4. Var. *naviculaeformis* : $V = 640 \mu^3$.

5. Var. *nanella* : $V = 324 \mu^3$.

Die berechneten Volumina sind nach ihrer Übereinstimmung in der Tabelle in drei Kolonnen eingereiht worden, deren Werte sich etwa verhalten wie 300 : 600 : 1200 (1 : 2 : 4). Die Zwergform Var. *nanella* ist somit tatsächlich aus der Art geschlagen, sie ist bei Herabgehen unter die normale Länge gleich dick geblieben und da sich die Längen der Var. *nanella* zu der Var. *longa* etwa verhalten wie 16 : 32 oder wie 14 : 28, kurz wie 1 : 2, erscheint auch das Volum auf die Hälfte verkleinert. Diese Tatsache gibt uns vielleicht im Verein mit der angeführten Überlegung eine Vorstellung, wie die Var. *nanella* entstanden sein kann. Sinkt, so könnte man nach dem Gesagten vermuten, bei der Teilung die neugebildete plötzlich auf die Hälfte der ursprünglichen Länge herab, so vermag die Diatomee ihr Volum nicht mehr zu regenerieren und verbleibt in ihrer Zwerggestalt, wobei sie wiederum nach ihrem ersten Entstehen dem Gesetz der Konstanz des neuen Volumens folgt.

Danach bliebe noch die Erklärung des Unterschiedes in den Werten von rund $600 \mu^3$ bis $1200 \mu^3$ bei den Messungen der Var. *longa* und bei denen der Var. *naviculaeformis* sowie der Var. *gomphonemiformis* übrig.

Die betreffenden Werte verhalten sich wieder rund wie 1 : 2, doch entstehen die Unterschiede in den Volumsbestimmungen nicht durch das Schwanken der Längen, sondern durch die Vergrößerungen der Dicken der gemessenen Individuen. Die Erklärung muß daher eine andere sein und ich glaube, daß es sich bei den an $1200 \mu^3$ heranreichenden Volumsangaben um die in Teilung befindlichen Diatomeen gehandelt hat, die offenbar mitunter gerade zur Zeit der Messung in solchen Massen in den Kolonien vorkamen, daß schwächliche Einzelindividuen überhaupt unbeachtet blieben. Dabei verdient eine besondere Erwähnung die Tatsache von der Unveränderlichkeit des quadratischen Querschnittes der gemessenen Diatomeenpaare, wie eine große Anzahl durchgeführter Querschnittsmessungen ergeben hat; denn theo-

retisch wäre bei der Teilung ein rechteckiges Aussehen der Doppelindividuen zu erwarten gewesen. Es ist auch nicht unmöglich, daß sich die Diatomeen vielleicht dadurch vor der Vernichtung durch die rapide Teilung schützten, daß die Individuen sich bei der Teilung nicht trennten, sondern als Doppelindividuen beisammenblieben.

Höchst auffallend ist endlich die Übereinstimmung der Volumwerte der Var. *gomphonemiformis*, der trapezförmigen Varietät, mit den parallelepipedischen Gestalten, weil man eben rechnerisch trotz der abnormen Gestalt wieder zur Bestätigung des Satzes von der Volumskonstanz gelangte.

Danach lautet das Ergebnis des vorliegenden Abschnittes in einen Satz zusammengefaßt:

Das Volum der farblosen Diatomeen bleibt bei der Teilung trotz der Längenverminderung konstant.

Dieses Gesetz ist vielleicht direkt vergleichbar mit den Ergebnissen von Schütt¹ an *Rhizosolenia alata*, der im Laufe des Jahres ein Schwanken der Diatomeendicke von $3 \cdot 34 - 9 \cdot 35 \frac{1}{840}$ mm Teilstriche feststellen konnte. Nur hat er gerade die größere Breite als das Primäre und die bedeutende Schmächtigkeit als das Sekundäre aufgefaßt.

»Zu gleicher Zeit haben alle Individuen von *Rhizosolenia alata* bei sehr verschiedener Länge annähernd denselben Querdurchmesser.« »In verschiedenen Jahreszeiten ist die Dicke der *Rh.* sehr verschieden, und zwar ist dieselbe im Herbst am größten und nimmt dann im Laufe des Jahres langsam ab, bis sie im folgenden Herbst nur noch etwa $\frac{1}{3}$ der ursprünglichen Größe beträgt.« »Wenn dieser Punkt erreicht ist, so wird durch Auxosporenbildung wieder eine Generation von der ursprünglichen Dicke erzeugt, welche durch Teilung in der folgenden Zeit wieder dünner wird.«

Bevor ich dieses Kapitel verlasse, möchte ich noch einige Zitate bringen, die nur den Beweis zu liefern scheinen, daß dieses von mir für die farblose Diatomee *Nitzschia putrida* nachgewiesene Gesetz, das bei dem eigentümlichen Teilungsmodus der Kieselalgen etwas seltsam anmutet, doch nur einen Spezialfall darstellt im Pflanzenreiche und im Reiche der Organismen überhaupt. So schreibt:

E. Amelung:² »Verschieden große Organe gleicher Art desselben Pflanzenindividuums bestehen aus Zellen von gleicher oder nahezu gleicher Größe.«

Strasburger³ ist zu dem Ergebnisse gelangt, daß »auch die embryonalen Zellen großer und kleiner, extrem ausgewählter Individuen in ihrem Ausmaß nicht von einander abweichen. Nicht die Zellengröße, nur die Zellenzahl wird durch die verschieden kräftige Ausbildung eines Individuums und seiner Glieder beeinflusst. Das Ausschlaggebende sind dabei aber sicher die embryonalen Zellen, deren Größe erblich fixiert ist und die dann auch unter dem Einfluß erblich fixierter Entwicklungsvorgänge zu bestimmter Größe heranwachsen«.

H. Driesch⁴: »Ich hatte schon vor längerer Zeit festgestellt, daß aus isolierten Blastomeren gezogene Larven in ihren Elementarorganen Zellen normaler Größe, normaler Form, aber im Verhältnis zum Keimwert reduzierter Zahl aufweisen.«

»Ferner hat Boveri vorausgesagt, daß parthenogenetische (thalykaryotische) Larven wohl nicht nur, wie zu erwarten, Zellen halber Größe und doppelter Zahl, sondern gelegentlich auch solche normaler Form und normaler Zahl, ja wohl gar doppelter Größe und halber Zahl aufweisen möchten.«

R. Chambers:⁵ »Bei Vögeln und Säugetieren begegnen wir der größten Konstanz in der Zellgröße.«

Einige Forscher haben das Vorhandensein dieser konstanten Zellgröße festgestellt. Boveri und Conklin haben sie am Menschen, Rabl an verschiedenen Säugetieren beobachtet.

¹ Schütt F. Auxosporenbildung von *Rhizosolenia alata*. Ber. d. d. bot. Ges., 1886, Bd. IV, p. 13.

² Amelung E., Über mittlere Zellengrößen. Flora 1893. 77. Bd., p. 207.

³ Strasburger E., Über das Saftsteigen, über die Wirkungssphäre der Kerne und die Zellgröße. Jena 1893. Verl. v. G. Fischer, p. 118.

⁴ Driesch H., Heidelberg. Die Entwicklungsphysiologie von 1902 bis 1905. Ergebnisse der Anatomie und Entwicklungsgeschichte. 14. Bd., 1904, p. 722 u. 724.

⁵ Chambers Robert, Einfluß der Eigröße und der Temperatur auf das Wachstum und die Größe des Frosches und dessen Zellen. Archiv für Mikroskopische Anatomie, 72. Bd., 3. H., 1908, p. 658.

Tabelle 7: Volumsbestimmungen an den

Varietas	Geimpft		Gemessen	
	auf	von → am	am	mit
<i>gigas</i>	Triest. Meerwasser P D Gcl.	.	.	.
<i>longa</i>	Rohmaterial in Triest. Meerwasser	.	.	7 a. II
»	» » » »	.	.	7 a. II
»	Triest. Meerwasser P D A.	7. April → 9. Juli	22. Aug. 1906	7 a. II
»	» » P A.	7. April → 9. Juli	22. Aug. 1906	7 a. II
»	Inulin-Stammkultur	7. April	22. Aug. 1906	7 a. II
»	0·1% Inulin-Agar	27. März	22. Aug. 1906	7 a. II
»	Triest. Meerwasser P D A.	.	24. Nov. 1906	7 a. II
»	» » »	.	24. Nov. 1906	$\frac{1}{12}$ J. 6
»	» » »	.	24. Nov. 1906	$\frac{1}{12}$ J. 6
»	» » »	.	23. Dez. 1906	$\frac{1}{12}$ J. 6
»	» » »	.	23. Dez. 1906	$\frac{1}{12}$ J. 6
»	» » »	7. April → 9. Juli → 22. Aug. 1906	25. Jän. 1907	7 a. II
»	Inulin-Leuzin-Agar	3. April 1906	25. Jän. 1907	7 a. II
»	Inulin-Agar	7. April 1906	25. Jän. 1907	7 a. II
»	» »	.	26. Jän. 1907	$\frac{1}{12}$ J. 6

Varietäten der *Nitzschia putrida* Benecke.

Durchschnitts-		Volumen in μ^3 von rund			Anmerkung
Breite	Länge	300—400	600—800	1000—1200	
in μ					
5	46	.	.	1150	
4·5	37·3	.	755·325	.	
4·5	38	.	769·5	.	
6·75	26·1	.	.	1189·181	
6·39	26·4	.	.	1077·967	
6·78	23·4	.	.	1075·661	Vielfach Kratikularbildungen.
6·5	29	.	.	1225·25	
5	43·6	.	.	1090	
4	39·3	.	628·8	.	
4	39·1	.	625·6	.	
4·4	33·7	.	652·432	.	
4	33·44	.	535·04	.	
6	33·15	.	.	1193·4	
6·26	28·52	.	.	1117·63	
5·5	25	.	756·25	.	
5	29·14	.	728·5	.	

Varietas	Geimpft		Gemessen	
	auf	von → am	am	mit
<i>longa</i>	.	.	26. Jän. 1907	$\frac{1}{12}$ J. 6
<i>nanella</i>	Triest. Meerwasser P D A.	Dezember 1906	? Dez. 1906	$\frac{1}{12}$ J. 6
»	» » »	.	26. Jän. 1907	$\frac{1}{12}$ J. 6
»	» » »	.	5. Febr. 1907	$\frac{1}{12}$ J. 6
»	» » »	15. Juni → 9. Juli → 22. Aug. 1907	25. Okt. 1907	$\frac{1}{12}$ J. 6
<i>naviculaeformis</i>	» » P A.	15. Juni → 9. Juli	22. Aug. 1906	7 a. II
» »	» » P D A.	15. Juni → 9. Juli → 22. Aug. → 19. November 1907	24. Jän. 1907	$\frac{1}{12}$ J. 6
» »	» » »	15. Juni → 9. Juli → 22. Aug. → 19. Nov. 1907	24. Jän. 1907	$\frac{1}{12}$ J. 6
» »	» » »	15. Juni → 9. Juli → 22. Aug. 1907	25. Jän. 1907	7 a. II
» »	» » »	22. Dez. 1906 → 22. Jän. → 1. Febr. 1907	14. Mai	$\frac{1}{12}$ J. 6
» »	» » »	15. Juni → 9. Juli → 22. Aug. 1907	25. Okt. 1907	$\frac{1}{12}$ J. 6
<i>siliginea</i>	» » »	15. Juni → 9. Juli → 22. Aug. → 12. Nov. 1907	.	$\frac{1}{12}$ J. 6
<i>gomphonemiformis</i>	0·10/0 Inulin-A.	3. April 1906	2. Nov. 1906	7 a. II
»	» »	»	2. Nov. 1906	7 a. II
»	» »	.	2. Nov. 1906	7 a. II

Durchschnitts-		Volumen in μ^3 von rund			Anmerkung
Breite	Länge	300—400	600—800	1000—1200	
in μ					
4·82	32	.	743·437	.	
4·5	16·28	329·67	.	.	Ausgesprochen \square Q. S., aus der Var. <i>longa</i> hervorgegangen.
4·59	14·42	303·802	.	.	Aus der Var. <i>naviculæformis</i> hervorgegangen.
4·94	13·863	338·307	.	.	» » » » »
6	10·64	383·04	.	.	» » » » »
9	16	.	.	1296	
7·6	15·2	.	877·952	.	
9	10	.	810	.	
8·25	9·603	.	653·604	.	6·9 Querschnitt \square 6·6
8·5	10	.	722·5	.	Am 8. Februar 1907 photographiert (Fig. 17. Taf. IV).
7·6	9·8	.	566·048	.	Querschnitt \square 7 \times 7!
8	21·25	.	.	1360	Als Parallelepiped berechnet.
7 , 0·5	21	369·25	.	.	\square $\frac{7}{0·5}$
9 , 6	20·1	.	.	1145·7	\square $\frac{9}{6}$
9·9, 6	24	.	.	1547·28	\square $\frac{9·9}{6}$

XIV. Über die Bewegung der *Nitzschia putrida* und den Verlust ihres Bewegungsvermögens bei längerer Zucht.

Als einen der größten Vorteile bei der Reingewinnung der *Nitzschia putrida* durfte ich ihr außerordentliches Bewegungsvermögen bezeichnen,¹ das sie in den Stand setzt, über weite Strecken auf, ja sogar in dem Agar zu kriechen. Dabei beschreibt sie ähnlich wie die *Nitzschia Palea*² große Bogen, die als Furchen und Linien, meist von rosa Interferenzfarbe im Mikroskope sichtbar werden. Das Bestehenbleiben dieser Gänge ist, wie schon erörtert wurde, ein Beleg für das Vorhandensein eines agarlösenden Fermentes.³

Die Bewegung der *Nitzschia putrida* wurde bereits von Provazek⁴ beschrieben und von Benecke⁵ genau studiert.

Untersucht man nun die farblose Diatomee in verschiedenen Perioden der Reinzucht auf ihr Bewegungsvermögen hin, so macht man die höchst auffällende Beobachtung, daß sie im Laufe der Zeit ihre normale Bewegungsfähigkeit völlig verliert.⁶ Die farblosen Nitzschien sind aus einem Nomadenvölkchen ein sesshaftes kompakt lebendes Volk geworden.

Diese einschneidende Umwandlung in der Bewegungsart vollzieht sich, soviel ich aus meinen Aufzeichnungen ersehe, in der Zeit der abnorm starken Verbreiterung der Var. *naviculaeformis* und *gomphonemiformis*,⁷ dagegen kommt Bewegung der Var. *cornuta*, *siliginea* und *nanella* zu.

Die Erklärung des Abhandenkommens der Gleitbewegung möchte ich nun in dem Umstande suchen, daß, wie noch mitgeteilt werden wird,⁸ die Nitzschien-Membran einer allmählichen Auflösung durch das Plasma verfällt, wodurch natürlich zunächst die dünnsten Stellen, die Raphen, die gerade bei der Bewegung eine so große Rolle spielen, dem Plasma geopfert werden und damit der von Müller O.⁹ und Lauterborn¹⁰ bei braunen Diatomeen so genau studierte Bewegungsapparat der Vernichtung anheimfällt. So wie nun ein Schiff ohne Schraube, so muß die Diatomee ohne Bewegungsapparat bewegungslos werden.

Ist aber das Plasma endlich frei¹¹ und haben sich die Plasmodien gebildet, dann setzt eine für nackte Plasmen oft beschriebene, für die Diatomeen aber bisher unbekannte Bewegung ein: die Kriechbewegung der »Plasmodien«.

¹ Siehe Kapitel I, p. 7 [663].

² Richter Oswald, II, I. c., p. 502.

³ Siehe Kapitel X b., p. 43 [699].

⁴ Provazek S., I. c., p. 69.

⁵ Benecke W., I, I. c., p. 551.

⁶ Diese Art von Bewegungsverlust scheint mir wesentlich verschieden von der, die z. B. Miquel P. (I. c., p. 26) als Vorläufer der Auxosporenbildung erwähnt: »La Nitzschie suspend ses mouvements, on voit son protoplasme gonfler considérablement, au centre de la Diatomée, c'est-à-dire autour du noyau.«

⁷ Siehe Kapitel XIX, p. 96 [752], u. Kapitel XX, 2. u. 3, p. 106 [762].

⁸ Siehe Kapitel XVI, p. 83 [739].

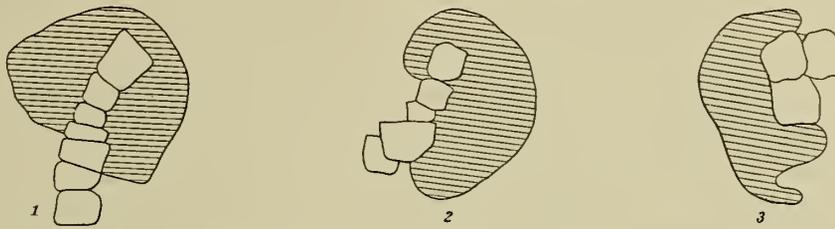
⁹ Müller O., Durchbrechungen der Zellwand in ihren Beziehungen zur Ortsbewegung der Bacillariaceen. Ber. d. d. b. G. 1889. Bd. VII, p. 169. — Müller O., Die Ortsbewegung der Bacillariaceen; III + IV. Ber. d. d. b. G. 1896, Bd. XIV, p. 54 und 111.

¹⁰ Lauterborn R., Untersuchungen über Bau, Kernteilung und Bewegung der Diatomeen. Leipzig, Verl. v. W. Engelmann, 1896, p. 10 u. 113.

¹¹ Siehe Kapitel XIX, p. 97 [753].

In 3 Skizzen möchte ich ein durch 24 Stunden unter dem Mikroskope gelassenes und durch Zeichnungen zu verschiedenen Tageszeiten festgehaltenes Plasmodium wiedergeben (mit 7 a, II gezeichnet).

Fig. 5.



Ein Plasmodium in verschiedenen Stellungen gezeichnet.

1. Um $\frac{1}{2}$ 10 a. m. des ersten Beobachtungstages.
2. > $\frac{1}{2}$ 8 p. m. > > >
3. > $\frac{1}{2}$ 10 a. m. > zweiten >

Die schraffierte Masse stellt das Plasmodium, die weiß gelassenen Vierecke die von ihm umschlossenen farblosen Diatomeen dar.

(Vergrößerung 280.)

XV. Schleimabsonderungen der *Nitzschia putrida* Benecke und ihr Verschwinden bei der Reinzucht.

Wie die starke Beweglichkeit, so spielte bei der Reinzucht¹ der *Nitzschia putrida* ein Umstand eine große Rolle, die Fähigkeit der Diatomee, sich auf dem Objektträger mittels Schleimklümpchen festzuhaften. Es genügt eine Minute ruhigen Stehenlassens, um die Diatomeen aus dem Detritus der Rohkultur zum Niederlassen zu bringen, worauf sie selbst ein starker Strahl von Meerwasser nicht aus ihrer Lage entfernt. Damit erscheint also eine auch schon von Benecke² beobachtete Erscheinung praktisch ausgewertet und der Beweis erbracht, daß unsere Diatomee unter Umständen auch Schleimklümpchen abzusondern vermag. Rascher Zusatz von Tusche³ läßt die Schleimzone deutlich hervortreten.

Es ist nun bemerkenswert, daß reingezüchtete Diatomeen diese Fähigkeit des Anheftens verlieren und daß man außerstande ist, bei Individuen von Agarzuchten, die völlig frei, ohne Agarreste, im Triester Meerwasser untersucht werden, mit Tusche irgendeine auf größere Schleimmengen deutende Hemmung im Vordringen der Tuscheteilchen nachzuweisen.

Es ist gar nicht unmöglich, daß Schleimabsonderung und Bewegungsvermögen bei unserer Diatomee in einer direkten Beziehung stehen, etwa so, daß Bewegungsfähigkeit Schleimbildung als notwendige Folge nach sich zieht und Bewegungsverlust auch Schleimverlust verursacht. Daher ist vielleicht mit dieser Beobachtung eine nicht unwesentliche Stütze für die Anschauung Müller's⁴ von dem Zusammenhange von Schleimbildung und Bewegung bei Pinnularien beschafft, der in Übereinstimmung mit Beobachtungen von Klebs³ an Desmidiaceen festgestellt hat, »daß dieselben einen lockeren Schleim abscheiden, der die Zelle vollständig einschließen kann; sie tun dies aber nur während der Bewegung.«

¹ Siehe Kapitel I, p. 7 [663].

² Benecke W. I, l. c., p. 553.

³ Klebs G., Über die Organisation der Gallerte bei einigen Algen und Flagellaten. Unters. aus d. bot. Institut. zu Tübingen 1886, Bd. II., H. 2, p. 333. — Hauptfleisch P., Zellmembran und Hüllgallerte der Desmidiaceen. Inaug. Dissert. Greifswald 1888.

⁴ Müller O., Die Ortsbewegung der Bacillariaceen. II. B. d. d. b. G. 1894. Bd. XII, p. 139, und Müller O., Die Ortsbewegung der Bacillariaceen. V. Ebenda 1897, Bd. XV, p. 79.

XVI. Zur Histologie der *Nitzschia putrida* Benecke.

Bezüglich der Histologie der reingezüchteten farblosen Diatomee kann ich mich kurz fassen, da bereits Provazek¹ und Benecke² das wesentlichste darüber mitgeteilt haben.

1. Kern und Kernverschmelzung (?).

Der Kern ist in der lebenden Zelle schwer sichtbar und in der toten schwer zu färben, da er sich ungemein schwierig von dem in der Diatomeenmitte befindlichen Plasma differenzieren läßt.

Die von Benecke³ empfohlene Osmiumsäure-Haemalaun-Nelkenölmethode zur Ausfärbung und Deutlichmachung des Kernes versagte in meinem Falle stets, weil die in der Regel zur Untersuchung verwendeten Diatomeen aus Triester Meerw. PDA. — Plasmodien durften überhaupt nie vom Substrate weggehoben werden, sonst wurden sie völlig zerstört — häufig in einer Masse von Dextrin eingebettet lagen, die mit großer Zähigkeit das Wasser bei den Entwässerungsbemühungen festhielt, andererseits, weil selbst leicht färbbar, die Färbung der Diatomeen schädigte und durch konzentrierten Alkohol in eine derbe Masse verwandelt wurde, mit der man in der Regel nichts mehr anfangen konnte.

Überdies hat auch noch der Kern und das Plasma der »Brücke«³ eine ganz ähnliche Färbefähigkeit, wodurch die Differenzierung noch mehr erschwert erscheint.

Die günstigsten Färbungsergebnisse erzielte ich nach Fixierung mit Osmiumsäuredampf mit Anilinalgentianaviolett (zirka 30 cm³ Anilinwasser mit einem einzigen Körnchen Farbstoff), in zweiter Linie mit Jodwassereosin direkt oder nach Entwässerung mit Alkohol. Im zweiten Falle ist eine nachherige Einbettung in Nelkenöl notwendig. Doppelfärbungen lassen sich mit Jodwasser-Eosin-Anilin-Gentianaviolett herstellen, wobei der Kern rötlich, das Plasma violett gefärbt wird.

Die von Benecke³ mitunter beobachtete seitliche Lagerung des Kernes fand ich auch in meinen Präparaten wieder.

Es wurde bereits erwähnt, wie schwer die Differenzierung des Kernes bei einer normalen *Nitzschia putrida* mit Hilfe von Fixierungs- und Färbemitteln gelingt und wie klein der Kern der normalen Zelle ist. Desto mehr überrascht die Tatsache, wie leicht differenzierbar und wie groß im Verhältnis der Kern der Plasmodien⁴ ist, so daß man — derartige relative Riesenkerne kommen nur in der Ein- oder Zweizahl im Plasmodium vor — zur Meinung kommt, daß er wie das Plasmodium durch die Verschmelzung mehrerer Plasmen durch Verschmelzung der Kerne dieser nackten Plasmaklumpchen entsteht, doch sind weitere Anhaltspunkte für diese Ansicht nicht gewonnen worden. Fig. 22 der Tafel IV stellt ein Plasmodium mit seinem großen Kerne dar. Für das Gelingen der Färbung ist dabei wesentlich, daß die Prozeduren der Fixierung mit Osmiumsäuredämpfen und die Färbung mit Gentianaviolett ohne Abstreifen der Plasmodien von dem Agarstückchen, auf dem sie gefunden wurden, also mit dem ganzen Agarstückchen durchgeführt werden.

2. Plasma.

Das Plasma ist im lebenden Zustande meist maschig oder schaumig und weist, mit Osmiumsäure fixiert, ein ungemein zartes weitmaschiges Netz auf, zu dessen Färbung ich insbesondere Magdalarot und

¹ Provazek S., l. c., p. 69.

² Benecke W., I, l. c., p. 545.

³ Benecke W., I, l. c., p. 546.

⁴ Vgl. Kapitel XIX, p. 99 [755].

Gentianaviolett empfehlen kann, im übrigen sei auf Benecke's¹ diesbezügliche gründliche Untersuchungen verwiesen.

Das Schwarzwerden der Diatomeen bei gehemmtem O-Zutritt.

Bei Strichkulturen von Triester Meerw. PDA., bei denen sich am unteren Ende des Striches relativ viel Flüssigkeit angesammelt hatte, besonders aber bei den Impfmassen der »O-freien Eprouvetten« der Experimente über den Einfluß des atmosphärischen Sauerstoffs auf die farblose Diatomee² merkte man makroskopisch wiederholt eine Verfärbung ins Sepiabraune bis Tiefschwarze. Die Vermutung, daß ein farbstoffzeugender Organismus aus dem Reiche der Pilze oder Bakterien als Verunreinigung in die Eprouvetten gekommen sei, wurde durch die mikroskopische Untersuchung Lügen gestraft. Denn die Diatomeen selbst erwiesen sich als braun bis schwarz gefärbt, und zwar machte es den Eindruck, als ob das Plasma dabei der Träger des Farbstoffes wäre, der infolgedessen körnelig aussah. Dieser Farbstoff scheint sehr dauerhaft zu sein, denn die Diatomeen eines Glyzerinpräparates vom 8. Oktober 1907 zeigten noch am 24. März 1909 die Färbung unverändert. Die beste Vorstellung von dem Aussehen solcher Zellen wird man bekommen, wenn ich sage, daß ich zunächst an eine den Beggiatoen analoge Schwefelkörnchenbildung glaubte. Doch ist diese Ansicht entschieden falsch, da Diatomeen, welche braun bis schwarz geworden sind, nicht mehr leben. Darüber, wie man sich diese Farbstoffbildung zu denken hat, vermag ich noch nichts zu sagen.

3. Leukoplasten.

Da in der Systematik der braunen Diatomeen die Chromotophoren eine große Rolle zu spielen beginnen,³ war es natürlich auch von großem Interesse, Leukogebilde analoger Art bei den farblosen Parallelförmigen der braunen Diatomeen aufzufinden. Daß man sich bereits die größte Mühe gegeben hat, derartige Zelleinschlüsse sicher festzustellen, beweisen die Ausführungen von Provazek,⁴ Benecke⁵ und Karsten⁶ gerade über diesen Punkt. Tatsächlich hat keiner auch nur eine Spur von Gebilden zu erkennen und durch Färbungen sichtbar zu machen vermocht, denen man mit Fug und Recht die Bezeichnung Leukoplasten hätte geben können. Ich habe mich nun natürlich auch angestrengt, den Chromoplasten analoge Bildungen bei der kultivierten Diatomee festzustellen, doch schlugen auch meine diesbezüglichen Bemühungen sämtlich fehl.

4. Elaioplasten.

Lauterborn⁷ zeichnet in seinen prächtigen Tafeln zu beiden Seiten des Kernes bei *Pinnularia oblonga* zwei mit Kappen versehene große Gebilde, denen er den Namen »Bütschli'sche Körperchen« gegeben hat, die aber nach ihrer Morphologie ebensogut als Elaioplasten angesprochen werden könnten, wie dies ja auch schon Mereschkowsky vermutet.⁸

¹ Benecke W., I, l. c., p. 545.

² Siehe Kapitel VII, p. 32 [688], Tabelle 3.

³ Karsten G., Diatomeen der Kieler Bucht. Wiss. Meeresuntersuch. v. Kiel u. Helgoland, 1899, N. F. Bd. 4. — Ott E. s. p. 82 [738]. — Fr. Oltmanns, Morphologie und Biologie der Algen. II. Bd., Jena 1905, Verl. v. G. Fischer, p. 99.

⁴ Provazek S., l. c., p. 70.

⁵ Benecke W., I, l. c., p. 548.

⁶ Karsten G., I, l. c., p. 427.

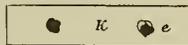
⁷ Lauterborn R., l. c., Taf. VI. Fig. 97, 104, 107—110, Text p. 22, 34 und 35.

⁸ Mereschkowsky C., Über farblose Pyrenoide und gefärbte Elaioplasten der Diatomeen, Flora, 92. Bd., Jahrg. 1903, p. 83 »und zu denselben (Elaioplasten) werden wohl auch die »roten Körnchen« von Lauterborn zu rechnen sein«.

Benecke,¹ der auch die farblosen Diatomeen nach dieser Richtung überprüfte, konnte »den beschriebenen Modus ihres Vorkommens, daß sie nämlich in geringer Zahl als Einschlüsse von größerer Gestalt und bestimmter Lagerung auftreten, nicht beobachten.« Dagegen fand er kleine, meist in größerer Zahl in der Zelle verteilte Körnchen, die er als Bütschliche Körperchen bezeichnet.

Mir ist es nun geglückt, bei Behandlung der farblosen Diatomeen mit sehr verdünntem Methylenblau an zwei ganz bestimmten, gleich weit vom Kerne entfernten Stellen kugelige Gebilde vital zu färben, die vielleicht die gesuchten Elaioplasten sind. Diese Anschauung wird noch dadurch besonders gestützt, daß an denselben Stellen (Fig. 6e) mit 1⁰/₀ Osmiumsäure je ein Tropfen oder je eine Gruppe kleiner Tröpfchen zu beiden Seiten des Kernes schön braunschwarz gefärbt wird.

Fig. 6.



Schematische Darstellung einer *Nitzschia putrida* nach der Färbung mit sehr verdünntem Methylenblau.

k = Kern; nicht gefärbt.

e = vermutliche Elaioplasten; schwach blaugrün.

5. Fett.

Durch die Untersuchungen von Lüders,² Pfitzer,³ Müller⁴ und Beijerinck⁵ ist der Nachweis erbracht worden, daß braune Diatomeen unter ungünstigen Ernährungsbedingungen, bei Wassermangel,² bei Sauerstoffmangel usf. enorme Mengen eines fetten Öles speichern; »es scheint, daß der gesamte Zellsaft durch Öl verdrängt und ersetzt werden kann.«⁶ Benecke⁶ hat nun dieselbe Erscheinung bei den farblosen Diatomeen beobachtet und feststellen können, daß nach dem Übertragen solch verfetteter Diatomeen in einen neuen Kulturtropfen eine Auflösung des Fettes eintrat.

Es ist nun gerade für den Nachweis des Na als notwendigen Nährstoffes⁷ der *Nitzschia putrida* von Interesse, daß in sämtlichen Kulturen mit niederem Kochsalzgehalte (von 0·5⁰/₀ ClNa abwärts) bei Verwendung von Milchagar in den Diatomeen massenhaft Fett zu sehen war, während die sonst gleich zusammengesetzten Nährböden höheren Kochsalzgehaltes wenig oder kein Fett in den Diatomeen aufkommen ließen.

Das war ein Nebenergebnis des großen ClNa-Versuches vom 15. Mai 1908, der in der Tabelle I seine Darstellung gefunden hat. Um nun den eben beschriebenen Befund auch in der großen Tabelle sichtbar zu machen, wurde die Bemerkung »Fett in Massen [F]« mit in sie aufgenommen und in die letzte Horizontalkolonnie eingetragen. Ich möchte übrigens hervorheben, daß auch Überfütterung zu überreichlicher Fettbildung führen kann.⁸

Im Anschlusse an die Ausführungen über Fettmassen in der *Nitzschia putrida* möchte ich noch des »Speckglanzes« gedenken, den Schütt⁹ zuerst beschrieben hat. Er beobachtete, daß mitunter einzelne Diatomeen und Peridineen äußerst glänzend

¹ Benecke W., I, I. c., p. 550.

² Lüders J. E., Beobachtungen über die Organisation, Teilung und Kopulation der Diatomeen. Bot. Zeitg. 1862, XX. Jg., p. 42.

³ Pfitzer E., Untersuchungen über Bau und Entwicklung der Bacillariaceen. Bonn 1871, I. c., p. 33.

⁴ Müller O., Durchbrechungen der Zellwand in ihrer Beziehung zur Ortsbewegung der Bacillariaceen. Ber. d. d. b. G. 1889, Bd. VII, p. 179.

⁵ Beijerinck M. W., Das Assimilationsprodukt der Kohlensäure in den Chromatophoren der Diatomeen. Recueil des Travaux Bot. Neerlandais, 1904, Nr. 1, p. 28.

⁶ Benecke W., I, I. c., p. 549.

⁷ Siehe Kapitel II, p. 11 [667].

⁸ Vgl. Kapitel XIX, p. 91 [747], Fig. 21, Taf. IV.

⁹ Schütt F., Die Peridineen der Planktonexpedition, Kiel u. Leipzig, 1895, p. 44.

Denkschr. d. mathem.-naturw. Kl. Bd. LXXXIV.

und stark lichtbrechend werden, angeblich als Folge der Bildung eines stark lichtbrechenden Körpers in ihrem Innern. Benecke¹ hat die gleiche Erscheinung bei seinen farblosen, Karsten² bei seinen Kulturen brauner Diatomeen festgestellt. Es ist nicht unwahrscheinlich, daß die genannten Forscher großen Fettanhäufungen, wie den beschriebenen, diesen Namen gegeben haben. Ich selbst habe, wenn nicht diese Fettmassen gemeint sind, dergleichen noch nie gesehen, so daß ich mir kein abschließendes Urteil darüber bilden kann.

6. Membran.

Bezüglich der Anatomie und der chemischen Beschaffenheit der Membran der *Nitzschia putrida* in ihrer Ausbildung als Var. *longa*³ ist wohl zu Benecke's⁴ Ausführungen kaum etwas Wesentliches beizufügen. Hingegen machen sich an ihr als Var. *lata*, *parva*, *cornuta*, *gomphonemiformis* und *siliginea*⁵ die auch schon im Namen angedeuteten Veränderungen: Verbreiterung bei gleichzeitiger Verkürzung, abnorme Hornbildungen oder Reduktion der einen Seite bemerkbar, so daß beispielsweise die Gestalt einer Gomphonema, eines Kipfels u. dgl. in Erscheinung tritt: insbesondere die kipfelförmigen Verkrümmungen der Var. *siliginea* scheinen mir beachtenswert, weil sie wohl in einseitiger Hemmung ihren ersten Bildungsanstöß erhalten haben mögen.

Das Beachtenswerte und Merkwürdige liegt bei der Ausbildung dieser Zerrgestalten der ursprünglich regulär und mit der typischen Struktur der Nitzschien versehenen Schalen unbedingt darin, daß hier ein Fall vorliegt, der beweist, wie hinfällig selbst das wichtige Kennzeichen der Schalenstruktur unter Umständen werden kann. Wie sehr klammerte sich die frühere Systematik der Diatomeen an das Merkmal der Schalenstruktur! Und hier sehen wir nicht nur die feinere Struktur der Schale, nein, die Schalenform selbst den tiefgehendsten Veränderungen unterworfen.

Bei der Diskussion der Plasmodienbildung⁶ wird noch auf Miquel's⁵ Arbeiten genauer eingegangen werden müssen, dem bei der *Nitzschia Palea* und anderen Diatomeen der Nachweis geglückt ist, daß die Diatomeenschalen mit ihrer normalen Struktur nach der erfolgten »Parthenoauxosporenbildung«⁶ als solche nicht sofort in Erscheinung treten, sondern erst im Laufe einiger Teilungen, wobei sie angeblich durch die Tätigkeit des Kernes und des Plasmas die normale Struktur wieder erhalten.

Mir scheint dieser Befund Miquel's lange Zeit viel zu wenig beachtet worden zu sein. Und dieses Unbeachtetlassen mag wieder damit zusammenhängen, daß sich mit der Schalenstruktur der Diatomeen, abgesehen von den Sammlern, vor allem Systematiker beschäftigten, denen bei dem Bestreben der Klassifikation gerade das Festhalten an der bestehenden Form und an der unveränderlichen Linie viel gelegener sein mußte als die Feststellung fließender Formen.

Man hat auf das »Gehäuse« zu viel Gewicht gelegt und über das Haus den Bewohner vergessen, und mir scheint, daß die von Karsten⁷, Ott⁸, Oltmanns⁹ und anderen jüngeren Botanikern unter Zuhilfenahme der Untersuchung der Chromatophoren und des Zellinnern angebahnte neue Auffassung in der Bewertung der Membran durch die vorliegenden Ausführungen über die Kieselschale der *Nitzschia putrida* eine nicht unwesentliche Stütze erhalten dürfte. Und wenn auch die Kieselschale vermutlich stets eine bevorzugte Stellung in der Systematik der Diatomeen behalten wird, so erscheint doch

¹ Benecke W., I, I. c., p. 550.

² Karsten G., I, I. c., p. 413.

³ Vgl. Kapitel XIX, p. 96, 97 [752, 753].

⁴ Benecke W., I, I. c., p. 540 u. 541.

⁵ Miquel P., Décembre 1893, I. c., p. 27, vgl. das Zitat im Kapitel XIX, p. 98 [754].

⁶ Siehe Kapitel XIX, p. 100 [756].

⁷ Karsten G., Diatomeen der Kieler Bucht, I. c.

⁸ Ott E., Untersuchungen über den Chromatophorenbau der Süßwasser-Diatomeen und dessen Beziehungen zur Systematik. Sitzb. d. kais. Akad. d. Wiss. in Wien, math.-naturwiss. Kl., v. 8. Nov. 1900, Bd. CIX, Abt. I, p. 769.

⁹ Oltmanns Fr., II. Bd., I. c., p. 99.

in unserem Falle die große Bedeutung des plasmatischen Inhalts außer Frage gestellt. Ihm kommt die Hauptrolle an der Ausgestaltung der Membran der *N. putrida* zu. Zieht er sich in die Breite, so wird die Membran breit angelegt (Var. *lata*), zieht er sich wurstförmig aus, so entstehen bei gleichzeitiger Krümmung des Inhalts Kipfelgestalten (Var. *siliginea*), bei lokalen Ausstülpungen gehörnte Formen (Var. *cornuta*). Diese Unterordnung der Membran geht so weit, daß sie aufgelöst und vom Plasma sozusagen verzehrt werden kann (Plasmodienbildung).

Und damit komme ich zu dem wichtigen Befunde, der sich der Anatomie der Diatomeenmembran anfügen läßt:

Die Auflösbarkeit der Kieselsäuremembran der *Nitzschia putrida* durch das Plasma.

Verascht man zunächst normal ausgebildete Individuen dieser Art, indem man zum Beispiel von einer Agarkultur eine Probe, die gute Entwicklung zeigt, auf ein Glimmerplättchen aufträgt, glüht, die bleibende Kohle mit Salpetersäure aufnimmt und neuerlich verascht, so daß eine reine weiße Asche verbleibt,¹ so erhält man die normalen Nitzschiengestalten in der denkbar schönsten Ausbildung.

Macht man aber dieselbe Probe mit dem Plasmodienmaterial vom M S A. mit 0·5 oder 1 Prozent CINa-Zusatz, so bleiben nur Andeutungen von Diatomeenschalen, kümmerliche Reste, »Ruinen verschwundener Pracht«. Und doch waren Diatomeen verascht worden. Diese Schalenreste haben mich oft, natürlich mutatis mutandis, an die ausgehöhlten, korrodierten Stärkekörner erinnert. Schon das allein wäre Beweis genug, daß die Diatomeenschalen aufgelöst worden sein müssen.

Aber bloß das Plasma kann sie aufgelöst haben.² Die Schalen bestanden jedoch aus freier oder aus anorganisch oder organisch gebundener Kieselsäure. Verschwunden kann die Kieselsäure nicht sein, sie muß sich daher im Plasma in irgend einer anderen als der »Schalenmodifikation« befinden. Wenn sich dies aber so verhält, dann muß es auch gelingen, durch Veraschung diese im Plasma gelöste Kieselsäure niederzuschlagen.

Aus diesem Gedankengange heraus verstehen wir mit einem Male, was die den Plasmodien so auffallend ähnlichen Massen in den Veraschungspräparaten eigentlich bedeuten: es ist die durch die Veraschung wieder in Erscheinung getretene, im Plasma gelöst gewesene Kieselsäure.

H. Behrens³ hat in seiner »Mikrochemischen Analyse« das von ihm früher,⁴ nachher von Haushofer⁵ empfohlene, von ihm als minder geeignet erkannte Säurefuchsin durch Malachitgrün als Färbemittel der anorganischen, freien, ungeformten Kieselsäure ersetzt. Behandelte man die oben erwähnten Kieselsäure-Plasmodienreste mit einer wässrigen Lösung von Malachitgrün, so färbten sie sich sofort intensiv blau, ein Beleg mehr, daß jene Massen Kieselsäure waren.

Meines Wissens ist der beschriebene der erste Fall, wo nachgewiesen worden ist, daß die Membran einer Diatomee vom Plasma aufgelöst werden kann.

Chemie der Membran.

Es kann natürlich nur eine von Tatsachen mehr minder unterstützte Hypothese über die mögliche chemische Zusammensetzung der Membran gegeben werden, da ja vorläufig viel zu wenig Material vorliegt, um selbst mikrochemisch qualitativ der Beantwortung dieser Frage beizukommen. Die Überlegungen aber, die mich vermuten lassen, daß sich die Membran als $\text{Na}_2\text{Si}_2\text{O}_5$, vielleicht gebunden an eine organische Substanz, herausstellen dürfte, möchte ich doch nicht unerwähnt lassen, weil sie vielleicht den Fingerzeig für weitere Forschungen nach dieser Richtung abgeben dürften.

¹ Strasburger E., Das botanische Praktikum, 3. Aufl., Jena 1897, Verl. v. G. Fischer, p. 370.

² Siehe Kapitel X, c), p. 44 [700].

³ Behrens H., Anleitung zur mikrochemischen Analyse. Hamburg u. Leipzig 1895, Verl. v. L. Voß, p. 95 u. 162.

⁴ Behrens H., l. c., p. 162.

⁵ Haushofer K., Mikroskopische Reaktionen, Braunschweig, Verl. v. Fr. Vieweg u. Sohn, 1885, p. 121.

Daß für die Entwicklung von Diatomeen¹ SiO₂ notwendig ist, braucht nicht nochmals betont zu werden, und daß dieses SiO₂ im Plasma gelöst vorkommen kann, ist früher eben gezeigt worden.

Bezüglich der Bedeutung des Kohlenstoffs beim Aufbaue der Membran sei nur darauf verwiesen, daß beim Mangel einer geeigneten Kohlenstoffquelle und bei Bezug des N aus KNO₃² die Diatomeen zur Plasmodienbildung neigen.

Es bleibt also nur noch die Erörterung der Bedeutung des Natriums als Stütze der oben geäußerten Anschauung übrig.

Die Plasmodienbildung wird nur bei mangelhafter Na-Ernährung bei gleichzeitiger ungünstiger C- und N-Nahrung eine massenhafte.³ Das Na wurde überdies als notwendiger Nährstoff erkannt.⁴ Wenn nun das Plasma den Nährstoff nicht im Substrate findet, was ist da natürlicher, als daß es ihn daher nimmt, wo er eben zu Gebote steht, aus der für seine Ernährung bisher wertlosen eigenen Hülle?

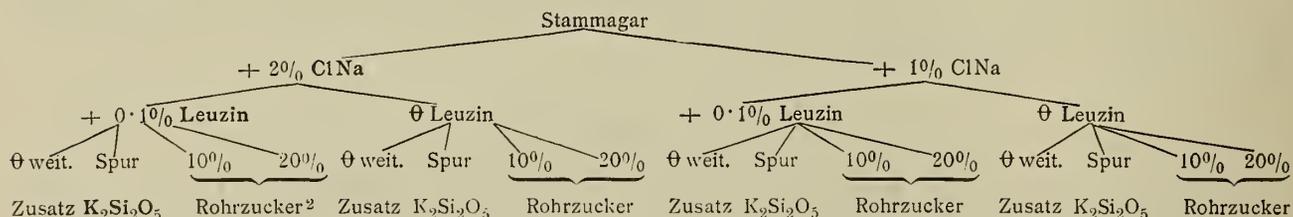
Die Annahme eines derartigen Auflösungsprozesses infolge Nahrungsmangels wäre nicht einmal so aus der Luft gegriffen, da Beispiele genug bekannt geworden sind, wo andere Nährstoffe, wie das Ca, in Zeiten der Not aus einer sonst in der Regel normalerweise unlöslichen Verbindung, wie dem Kalziumoxalat, wieder in den Stoffwechsel einbezogen wurden.⁵

Hunger, sagte ich mir nach alledem, Hunger nach C in passender Bindung, nach Si und Na mag die Diatomee in meinem KNO₃-Kochsalzversuche mit niederem Kochsalzgehalte zur Plasmodienbildung veranlaßt haben. Wenn man jetzt den »hungernden« Plasmodien in ausgiebiger Menge die drei Stoffe zur Verfügung stellte, würden sich dann nicht die nackten Plasmodien zu umhüllen beginnen⁶ und durch die erzeugte Hülle bekräftigen, daß ihnen wirklich das Gebotene gefehlt hat?

Von diesem Gedankengange beeinflußt, habe ich am 22. Juni 1908 einen großen Versuch eingeleitet, von dessen Teilversuchen einer zur Umhütung der Plasmodien führte.

Die Zusammensetzung des verwendeten Stammagars: 1000	T. dest. Wasser
	18 g gewässertes Agar
	0·2 » KNO ₃
	0·2 » K ₂ HPO ₄
	0·05 » MgSO ₄
	0·5 » CaCl ₂
	Spur FeSO ₄

Das Stammagar wurde nun wieder in zwei gleiche Portionen geteilt, zu denen bestimmte Zusätze nach dem folgenden Schema gegeben wurden.



Das Impfmaterial stammte von KNO₃-Eprouvetten u. Platten mit 0·5 und 10% ClNa aus dem Versuche vom 15. Mai 1908.

Die Impfung erfolgte am 16. Juni, und zwar nur durch Übertragungen mittels Agarstückchen.

¹ Oswald Richter, I, l. c., p. 6 [32].

² Siehe Kapitel III, p. 20 [676].

³ Siehe Kapitel III, p. 21 [677] und XIX, p. 97 [...].

⁴ Siehe Kapitel II, p. 17 [673].

⁵ Vgl. die kritische Behandlung der reichhaltigen Literatur über diese Frage in Benecke W., Über Oxalsäurebildung in grünen Pflanzen. Bot. Zeitg. 1903, H. V., p. 80.

⁶ Vgl. Klebs G., Beiträge zur Physiologie der Pflanzenzelle. Unters. aus dem botanischen Institut zu Tübingen, II. Bd., Leipzig, III. Heft, 1888, p. 489.

Von allen Teilversuchen führte nur der 2% ClNa L—K₂Si₂O₅-Versuch zum Ziel. Schon am 22. Juni bemerkte man zwischen den Diatomeenresten ein völlig kugelformiges Gebilde mit einer Hülle, die ich sonst nie bei Diatomeenplasmoiden¹ gesehen hatte und die sich durch ihre scharfe Kontur abhob. Am 30. Juni gab es deren schon eine ganze Anzahl in der Platte, doch erst am 13. Juli opferte ich die Reinkultur der mikroskopischen Untersuchung, die ergab, daß die beschriebenen Gebilde tatsächlich mit Membranen umgebene lebende Plasmoiden waren. An Höckern und Vorragungen, Warzen und Vertiefungen konnte man an der mit Membran umhüllten Kugel noch die Stellen wahrnehmen, wo die Diatomeen ursprünglich gehaftet hatten. Das neue Kugelgebilde rollte, geschützt durch die neue Hülle, leicht zwischen den im Präparate liegenden Agarstückchen herum, mit Neutralrot² ließ sich sein Inhalt prächtig färben und erst ein unsanfter Druck auf das Deckglas brachte die Kugel zum Platzen, wobei der rote Inhalt in mächtigem Strahl spritzgurkenartig hervorschoß, was auf einen hohen Turgor dieser »Zelle« deutete.

Und damit sind wir bei der Schwierigkeit der Bezeichnung des Gebildes angelangt, die gleich hier erörtert werden soll. Plasmoiden sind, wie noch gezeigt wird,³ aller Wahrscheinlichkeit nach Zellfusionen mit einem oder zwei Kernen. Die ganze Fusion umgibt sich nun mit einer Haut: Es ist eine ein- oder zweikernige Riesendiatomeenzelle isodiametrischer Gestalt, aus einer großen Zahl seinerzeit symmetrisch gebaut gewesener Diatomeen entstanden mit allen Charakteristiken der umhüteten Zelle.

Nun aber nochmals zu den interessanteren physiologischen Folgerungen aus diesem Versuche zurück.

In dem geglückten Experimente wurde den Diatomeenplasmoiden geboten: Na in 2% ClNa, C als Leuzin, SiO₂ als K₂Si₂O₅; das sind aber gerade die Elemente, auf deren Mangel die Membranauflösung zurückgeführt worden war. Sehen wir das ganze Versuchsschema daraufhin durch, so sind nirgends wieder diese Bedingungen realisiert. Am nächsten kommt wohl der betreffende Teilversuch mit 1% ClNa den gestellten Forderungen. Doch da kann man mit Recht einwenden, daß die stark »ausgehungerten« Diatomeen mit der Menge Na, die ihnen 1% ClNa bot, ihr Auslangen nicht mehr fanden. Die Rohrzuckerkonzentrationen endlich der anderen Versuche dürften schädlich gewirkt haben.

Daher hat insbesondere der letzt beschriebene Versuch in Übereinstimmung mit den vorgehenden theoretischen Erwägungen gezeigt, daß vielleicht die Membran der farblosen Diatomee *Nitzschia putrida* aus einer organischen Na₂Si₂O₅-Verbindung besteht, womit gleichzeitig ein Beitrag zu der noch ziemlich brach liegenden Frage nach der chemischen Zusammensetzung der Diatomeenmembran geliefert wurde, deren Literatur in meiner ersten Arbeit⁴ über Diatomeen nachgesehen werden mag. Gleichzeitig dürften damit die von Friedel und Ladenburg⁴ geäußerten Ansichten wesentlich gestützt worden sein.

Anhangsweise möchte ich noch einer Erscheinung gedenken, die sich bei den Färberversuchen mit Neutralrot herausgestellt hat: die unter gewissen Umständen auftretende Färbung der Diatomeenmembran mit Neutralrot.

Sie wurde am 21. Februar 1907 bei Schalen toter Diatomeen aus einer Kultur vom 22. August 1906 zum 1. Male beobachtet. Das Nährmedium war 1% ClNa LA. gewesen. Diese Membranfärbung ist höchst auffallend, da man wenigstens meines Wissens Neutralrot bisher vornehmlich als Färbemittel des

¹ Siehe Kapitel XIX, p. 97 [753].

² Siehe Kapitel XVIII, p. 90 [746].

³ Siehe Kapitel XIX, p. 99 [755].

⁴ Richter Oswald, I, l. c., p. 20 [46]. Hier vgl. auch weitere Stützen der Hypothese Friedel's und Ladenburg's, von denen die wichtigste der Nachweis der Notwendigkeit der Kieselsäure für die braunen Süßwasserdiatomeen gewesen war.

Zellinhaltes nicht aber als solches der Zellhaut¹ angewendet hat. Da die Schalen lebender Diatomeen diese Färbung nicht zeigen, die der abgestorbenen aber ja, so ist es nicht unmöglich, daß nach dem Tode vielleicht gewisse organische Stoffe aus dem Zellinnern die Membran infiltrieren und sie dadurch befähigen, den Farbstoff zu speichern. In analoger Weise würde sich dann auch die Speicherung des Anilinblaus durch die Membran der toten Diatomee erklären lassen.

Derartige Befunde, die uns die Membran einmal farbstoffabhold, das andere Mal farbstoffhold erscheinen lassen, dürfen uns um so weniger wundern, als insbesondere durch v. Wisselingh's² Untersuchungen der Einfluß der durch chemische oder physikalische Eingriffe bedingten Veränderungen der Membran auf die Färbungen mit Kongo- und Rutheniumrot unzweifelhaft dargetan wurde. Was endlich speziell die Kieselsäuremembran anlangt, so hat ja auch Cohn³ bei seinen Experimenten mit Tabaschir die weitgehende Abhängigkeit der Färbung von dem jeweiligen chemischen und physikalischen Zustande der Membran dargetan.

¹ Zur Färbung der Korklamelle empfiehlt es Chalon, vgl. Richter Oswald, Die Fortschritte der botanischen Mikrochemie seit Zimmermann's »Botanischer Mikrotechnik«. Z. f. w. Mikroskopie u. f. m. Technik. Bd. XXII, 1905, p. 388.

² Wisselingh van C., Mikrochemische Untersuchungen über die Zellwände der Fungi. Prings. Jb. f. w. B., 31. Bd., 1898, p. 627. — Die weitere Literatur vgl. bei Richter O., Die Fortschritte etc., I. c., p. 370.

³ Cohn F., Über Tabaschir. Beiträge z. Biologie d. Pfl., IV. Bd., 1887, p. 387.

XVII. Zur Frage der Reizplasmolyse bei der *Nitzschia putrida* Benecke.

Von Schütt¹ wurde bei Diatomeen und Peridineen eine Plasmolyse beobachtet, die im Aussehen völlig der normalen Plasmolyse gleicht, sich von ihr aber wesentlich dadurch unterscheidet, daß sie nicht durch Lösungen höheren osmotischen Druckes ausgelöst wird, sondern durch alle möglichen Reize. Sie ist von Karsten² an *Nitzschia longissima* und von Benecke³ auch bei den farblosen Diatomeen beobachtet worden. Benecke verfährt in der Weise, daß er die Experimentalpflänzchen im Hängetropfen im Dunkelschranke kultiviert und dann plötzlich dem durch den Abbe'schen Beleuchtungsapparat verstärkten Lichte eines Auerbrenners exponiert. Als bald »fast momentan« erfolgte das Abheben des Plasmas.

Ich habe diesen Versuch mit meinen Reinzuchtsindividuen auch bei grellem Sonnenlichte ungemein oft wiederholt, ohne auch nur eine Spur von Plasmolyse wahrzunehmen. Es wäre gar nicht unmöglich, daß es an der Diatomee liegt, weil Benecke³ die Erscheinung nur an *Nitzschia leucosigma* gesehen hat, oder es könnte auch der durch die üppige Ernährung bedingte Turgor in den Zellen ein so großer geworden sein, daß Lichtreize keinen Effekt in der Richtung des Plasmaabhebens ausüben.

Die folgenden Reizmittel wurden alle mit negativem Ergebnisse angewendet: 1. Licht eines Auerbrenners, Sonnenlicht, 2. starker mechanischer Druck auf das Deckglas mit Nadel, Skalpell, 3. Stoß, 4. Ätherdämpfe, 10% und 1% Ätherwasser, 10% und 1% Chloroformwasser, Chloroformdämpfe, NH₃-Dämpfe, 1% † und 0.5% ClNa †, destilliertes Wasser †, 1% Rohrzuckerlösung †, 1% Essigsäure, 1%, 0.05%, 0.025%, 0.012%, 0.006% † Kaliumpermanganat, † 1%, 0.5%, 0.25% KOH.

Wie durch nachträgliche Plasmolyse mit konzentrierter Rohrzuckerlösung oder durch Salzlösungen gezeigt werden konnte, waren bei den mit † Kreuz bezeichneten Versuchen die nicht reizplasmolisierten Zellen noch am Leben.

¹ Schütt F., Die Peridineen der Planktonexpedition. Kiel und Leipzig 1895, p. 110.

² Karsten G., Die Diatomeen der Kieler Bucht, I. c., p. 154.

³ Benecke W., I, l. c., p. 554 und 564.

⁴ Bei den Experimenten mit 1, 0.05, 0.025, 0.012% Kaliumpermanganat färbten sich die Diatomeen beim Absterben durch die Oxydation des Mn prachtvoll goldgelb bis braun, so daß man in der Tat ganz überrascht die weitgehende Ähnlichkeit mit der *Nitzschia Palea* in den langen und mit der *Navicula minuscula* in den kurzen Formen bewundern mußte.

XVIII. Die Vitalfärbung der *Nitzschia putrida* Benecke.

(Vgl. die Figuren 9, 12, Taf. III und 15—19, 21, 25 u. 26, Taf. IV.)

Seit den grundlegenden Untersuchungen Pfeffer's¹ hat sich die Vitalfärbung für histologische Differenzierungen außerordentlich wertvoll erwiesen. Ich erinnere nur an die Arbeiten von Nestler,² Rosenstiehl,³ Küster,⁴ Massart.⁵ Matruchot⁶ stellte zum Beispiel mittels Vitalfärbung bei Spirillen ein Gebilde fest, das er als Kern anzusprechen geneigt ist u. a. m. Auch in der Histologie der Tiere hat die Vitalfärbung ganz wesentliche Ergebnisse gezeitigt.⁷

Ein Schulobjekt für die Einübung der Vitalfärbung stellt nun nach meinen Erfahrungen die *Nitzschia putrida* vor. Der Erste, der bei farblosen Diatomeen die Eigenschaft, sich leicht vital zu färben, festgestellt hat, war Provazek⁸, der Neutralrot als Färbemittel benutzte. In der Tat ist auch nach meinen Erfahrungen Grübler's Neutralrot zur Färbung der *Nitzschia putrida* am geeignetsten. Man stelle sich für die verschiedenen Prozentsätze ClNa, die man in seinen Nährböden in Anwendung bringt, in Erlenmeyer-Kölbchen entsprechend prozentige Lösungen von ClNa in destilliertem Wasser her und löse je ein Körnchen Grübler's Neutralrot darin. Auf diese Art erhält man Lösungen, die tief dunkelweinrot gefärbt sind und von den Diatomeen innerhalb weniger Sekunden tief dunkelrot gespeichert werden.

Bei meinen ersten derartigen Experimenten erzielte ich auch, wenn es sich um Diatomeen von Triest. Meerw. P D A. oder Gelatine von gleich hoch konzentrierten Nährflüssigkeiten handelte, sehr gute Resultate auf die Art, daß ich in Triest. Meerw. so viel Grübler's Neutralrot löste, als sich in der Kälte oder für raschen Gebrauch in der Hitze lösen ließ. Eine derartige Lösung erscheint gelblich, offenbar wegen der Alkaleszenz des Meerwassers. Sie ist so wenig gefärbt, daß ein Tropfen auf dem Objektträger eben noch eine Andeutung eines gelblichen Stiches aufweist und doch reichte diese Spur Farbstoffes völlig aus, um Hunderte und Tausende der farblosen Diatomeen fast momentan intensiv rot zu färben, ein Farbumschlag, der die saure Reaktion des Zellsaftes dokumentieren und den Beweis erbringen würde, wie in bestimmten seltenen Fällen auch ein Farbstoff als Reagens gelten kann. Mit dieser zuletzt beschriebenen Auflösung von Neutralrot in Triest. Meerw. sind alle jene Präparate gefärbt worden, die in den Photographien zur Darstellung kamen.

Es färbt sich nur der Zellsaft, und zwar sofort. Dabei kann man bemerken, wie bestimmte Granula oder Tröpfchen dickerer Flüssigkeit in ihm immer zuerst die Farbe aufnehmen, um sich schließlich ungemein intensiv zu tingieren. Diese Granula erfüllen bald den ganzen Zellsaft wie dicht gedrängte rote Vakuolen und fließen schließlich zusammen, so daß sich von dem gesamten Zellsaft nach allmählicher Nachdunkelung desselben ins Tiefdunkelweinrote das farblos gebliebene Plasma und dessen zarte Verbindungsäden prächtig abheben. Das ist nun gerade der Moment, in dem die Diatomeen für die Photo-

¹ Pfeffer W., Über Aufnahme von Anilinfarben in lebende Zellen. Unters. aus d. bot. Institut zu Tübingen, II. Bd., 1886, H. II, p. 179.

² Nestler A., Die Blasenellen von *Antithamnion Plumula* (Ellis) Thur und *Antithamnion cruciatum* (Ag.) Näg., Wissensch. Meeresunters. in Kiel und Helgoland. Neue Folge. III. Bd., Helgoland, 1898, p. 3.

³ Rosenstiehl A., De l'action des tannins et des matières color. sur l'activité des levures. C. R., 119. Jg., 1902, p. 134.

⁴ Küster E., Zur Kenntnis der Bierhefe. Biolog. Centr. 18. Jg. 1893, p. 305.

⁵ Massart J., Recherches sur les organismes inférieures V. Sur le protoplasme des Schizophytes. Mém. cour. et autres mémoires de l'Acad. Belgique, Bd. 61, 1901.

⁶ Matruchot L., Sur une méthode de coloration du protoplasma par les pigments bacteriennes, CR., Bd. 127, Jg. 1898, p. 830. — Sur une méthode de coloration du protoplasma par les pigments des champignons. C. R., Bd. 127, Jg. 1898, p. 881.

⁷ Fischel A., Untersuchungen über vitale Färbung. Wiesbaden 1901. Verl. v. J. F. Bergmann. — Untersuchungen über vitale Färbung an Süßwassertieren, insbesondere bei Cladoceren. Intern. Revue d. ges. Hydrobiologie u. Hydrographie, 1908. Bd. I, H. 1—2, p. 39.

⁸ Provazek S., l. c., p. 70.

graphie am geeignetsten sind. Während man nämlich bei dem Mikrophotographieren mit den ungetriebenen Individuen seine liebe Not hat, ist das Aufnahmeverfahren bei derartig dunkel gefärbten Diatomeen selbstredend bedeutend vereinfacht. Zettnow's Filter leistet dabei natürlich noch überdies seine wertvollen Dienste. Denn da, wie bekannt, Zettnow's Filter vornehmlich Grün passieren läßt, Grün aber von Weinrot völlig verschluckt wird, werden die Diatomeen auf orthochromatischen Platten außerordentlich deutlich.

Außer mit Neutralrot wurde Vitalfärbung auch noch mit Anilinblau (Methylenblau) erzielt, das gleichfalls vorzüglich färbt, dem Neutralrot gegenüber aber doch einen nicht unbedeutenden Nachteil aufweist: es färbt nämlich die Membranen der Diatomeen zu rasch nach der Zellsaftfärbung, so daß die Differenzierung nicht so lange erhalten bleibt, wie bei Neutralrotfärbung, auch ist die Blaufärbung für die Photographie minder geeignet. Selbstverständlich werden mit Anilinblau die Häute toter Diatomeen gleichfalls, und zwar sofort tief dunkelblau gefärbt.

Die besprochene Vitalfärbung wird bei unserer Diatomee zur Lebensreaktion.

Die Vitalfärbung mit Neutralrot ist so charakteristisch, daß sie mit der Färbung des toten Plasmas¹ überhaupt nicht verwechselt werden kann und darin liegt ein besonderer Vorzug dieser Färbungsmethode bei unserem Experimentalobjekt. Es wird dadurch die Feststellung des Ablebens und des Abgestorbenseins der Diatomee bedeutend erleichtert und so kommt es, daß die Vitalfärbung mit Neutralrot überall für derartige Entscheidungen² neben der Plasmolyse mit 10% ClNa in Anwendung kam. Übrigens spielt auch bei den plasmolytischen Studien³ das Neutralrot eine große Rolle, weil es, vor der Plasmolyse angewendet, die Beobachtung ganz bedeutend erleichtert.

Ein nicht zu unterschätzender Vorteil, den die Vitalfärbung dem Experimentator bietet, ist die Erkennung auch ganz vereinzelter noch lebender Diatomeen unter Hunderten und Tausenden abgestorbener. Diese Wohltat verspürte ich zuerst bei einer etwa 9 Monate alten Kultur vom 12. Februar 1907, deren Geschichte lautete: 22. Dezember 1906 → 22. Jänner → 1. Februar → 5. Februar → 12. Februar 1907 und bei der ich mich überzeugen wollte, ob an ein Aufkommen der Diatomee beim Überimpfen auf ein neues Substrat noch zu denken war. Man stelle sich nur vor, wie schwer und zeitraubend es oft ist, bei einer kleinen farblosen Zelle Plasmolyse festzustellen, um unter Hunderten toten die eine oder die wenigen lebenden Diatomeen zu entdecken, und man wird dann den Wert einer Vitalfärbung, wie die mit Neutralrot, zu schätzen wissen, die nach wenigen Sekunden die sporadisch vorhandenen lebenden Individuen kenntlich macht, von deren Lebensfähigkeit man sich dann noch zum Überflusse mit 10% ClNa überzeugen kann.

Gerade die eben geschilderten Vorteile der Färbung mit Neutralrot scheinen mir auch eine wesentliche Stütze für die geäußerte Anschauung zu sein, daß in unserem Falle die Vitalfärbung auch eine Lebensreaktion darstellt. Dafür scheint mir nun auch noch die Tatsache zu sprechen, daß der aufgenommene Farbstoff beim Absterben in prächtigen Krystallen im Innern der Zellen ausfällt; denn er verhält sich, einmal aufgenommen, sowie Inulin, Zucker, Vanillin⁴ und andere im Zellsafte lösliche Stoffe, die erst postmortal auskristallisieren.

Es sei noch ergänzend angeführt, daß vor dem Absterben mitunter ein sehr charakteristischer Farbumschlag im aufgenommenen Neutralrot zu bemerken ist. Während es nämlich normalerweise in roter Farbe gespeichert wird, wird es kurz vor dem Eintritt des Todes der gefärbten Diatomeenzelle blau-

¹ Sogar als Korkfärbemittel wird das Neutralrot, wie erwähnt, von Chalon benutzt. Vgl. p. 86 [742].

² Siehe Kapitel XI, p. 46 [702].

³ Siehe Kapitel XVII, p. 87 [743].

⁴ Vgl. Wiesner J., Anatomie und Physiologie der Pflanzen. 5. Aufl. Wien 1906. Verl. v. A. Hölder, p. 59. Denkschr. d. mathem.-naturw. Kl. Bd. LXXXIV.

violett. Endlich soll daran erinnert werden, daß unter bestimmten Verhältnissen Neutralrot auch die Membran toter farbloser Nitzschien färbt, aber dann auch nur diese.¹

Die Vitalfärbung mit Neutralrot, ein Mittel zur Feststellung der Zusammengehörigkeit der Variationsformen der *N. putrida*.

Die Vitalfärbung mit Neutralrot hat sich auch dadurch in der Folge sozusagen unentbehrlich gemacht, daß sie ein vorzügliches Hilfsmittel dafür wurde, die Zusammengehörigkeit der auffallenden Variationen der farblosen Diatomee mit klarzulegen. Denn es wird gewiß zugegeben werden müssen, daß es für die Richtigkeit der Annahme, es seien alle oft so ganz apart aussehenden Formen² Variationen derselben Diatomee, als bedeutende Stütze angesehen werden mußte, wenn alle ausnahmslos das gleiche Verhalten gegen Neutralrot zeigten.

Die Vitalfärbung mit Neutralrot, ein Mittel zur Feststellung der osmotischen Saugwirkung der Zellen.

An dieser Stelle muß nochmals auf den früher³ beschriebenen Versuch über Oligodynamie und die dazugehörige Photographie Fig. 9, Taf. III verwiesen werden. Nachdem nämlich der Versuch beendet war, wurde behufs leichterer photographischer Aufnahme die Vitalfärbung mit Neutralrot in der Weise durchgeführt, daß die seinerzeit gewöhnlich gebrauchte Lösung von Neutralrot in Meerwasser in die Kulturschale gegossen und einen Tag über dem Agar stehen gelassen wurde. Dabei färbten sich die Diatomeekolonien sofort intensiv rot, um nach Entfernung der Farbstofflösung noch bis ins Tiefschwarzrote nachzudunkeln. Das Agar wird nur leicht rot gefärbt. Man konnte nun ganz deutlich feststellen, daß dieses Nachdunkeln auf Kosten der Agarfärbung in der Umgebung der Kolonien vor sich ging, die parallel zur dunkleren Färbung der Kolonien verblaßte. Auf diese Art entstanden lichte Höfe um die Kolonien, die auch in der Photographie zum Ausdrucke kamen.

Es scheint somit eine derartig einzige chemische Affinität zwischen dem Neutralrot und dem Zellsaft der lebenden Zelle zu bestehen, daß sich die Diatomeen den Farbstoff herbeiholen, woher sie nur können. Man bekommt dadurch einen klaren Begriff, in welcher Art lebende Zellen das von diesen durch die Osmose beherrschte Gebiet für ihre Ernährungszwecke ausbeuten dürften: eine durch die Vitalfärbung an die Hand gegebene einfache Darstellung sonst unsichtbarer osmotischer Vorgänge.

Die Vitalfärbung im Dienste von Teilungsstudien.

Die prächtige Vitalfärbung mit Neutralrot legte es auch nahe, zu verfolgen, wie sich denn vitalgefärbte Zellen bei der Teilung verhalten. Es wurden daher steril gefärbte Diatomeen auf neue Agarnährböden übertragen und weiter wachsen gelassen. Dabei stellte sich heraus, daß die rotgefärbten Zellen zumeist völlig farblose Tochterindividuen erzeugten, so daß man die seltsamen Bilder erhielt, daß rote und weiße Individuen als Partner ein Doppelindividuum bildeten. In seltenen Fällen waren hellrote Tochterindividuen die Folge der Teilung, die noch hellere erzeugten usf., bis auch da für den Beobachter weiß erscheinende Individuen entstanden. So kam es, daß die auf neue Nährböden übertragenen vitalgefärbten roten Kolonien bald von Tausenden und aber Tausenden von weißen Individuen umgeben waren.

Diese Experimente, insbesondere aber die sofortige Erzeugung weißer Individuen aus gefärbten beweisen, daß die in der ersten Generation erworbene Eigenschaft des Gefärbtseins nicht vererbbar ist und daß sich in höchst auffallender Weise die Teilung in den besprochenen ersten Fällen nicht auf die ganze Zelle erstreckte und die Zellsaftvakuole glatt halbiert wurde, sondern daß das Plasma durch eine Art Sprossung zuerst das Plasma des jüngeren Individuums formierte, das nachher erst einen neuen Zellsaftsaum ausgeschieden haben muß.

¹ Siehe Kapitel XVI, 6, p. 85 [741].

² Siehe Kapitel XIX, p. 92 [748].

³ Vgl. Kapitel IX, p. 38 [694].

XIX. Auffallende Variationen der rein gezüchteten farblosen Diatomee.

Bereits in dem Kapitel über die Notwendigkeit des Natriums¹ ließ sich bezüglich der Form der rein-gezüchteten Diatomee ein recht auffälliges Verhalten feststellen. Sie ändert nämlich, wie erwähnt, nach dem Kochsalzgehalte der Flüssigkeit ab, indem in niederen ClNa-Prozenten breitere kurze Formen auftreten, die in ihrer endgültigen Ausbildung ein gomphonemenartiges Äußere aufweisen und deren hauptsächlichliches Vorhandensein gewöhnlich auch schon in der Kolonieforn zum Ausdrucke kommt.² Die Prozentsätze, bei denen diese Gestalten gewöhnlich auftreten, sind 0·5 und 1 Prozent ClNa (vgl. Fig. 20 und 27 auf Taf. IV).

Eine weitere beachtenswerte Tatsache war die Gesetzmäßigkeit der Formveränderung, die sich bei der fortschreitenden Verkleinerung der Diatomeen herausgestellt hat; denn proportional zur Verringerung der Höhen-, nahm die Breitendimension der Diatomee zu, wodurch das Volumen konstant erhalten wird³ (vergl. Fig. 17 auf Taf. IV).

Damit sind einige Hinweise gegeben worden, auf welche Art auffällige Formveränderungen der reingezüchteten Diatomee zustande kommen können, und es wird nun Aufgabe dieses Kapitels sein, in Form einer eingehenderen Figurenerklärung die beobachteten auffallenden Variationen vorzuführen und für sie nachher unter Berücksichtigung etwa vorhandener Literatur bezüglich ihrer Entstehung eine möglichst plausible Erklärung zu geben.

Vorher mag nur noch betont sein, daß die meisten Bilder der Tafel IV photographische Aufnahmen von mit Neutralrot vital gefärbtem Materiale⁴ darstellen und daß das stets direkt Vergleichbare bei derselben Vergrößerung aufgenommen worden ist.⁵

Fig. 21 der Taf. IV stellt zunächst die rein kultivierte Diatomee in ihrer normalen Ausbildung dar, wie sie in der zweiten Reinzucht⁶ nach Überimpfen in Gelatine erhalten wurde. L.⁷ = 46 μ , Br.⁷ = 4—5 μ (V = 500; l. M.; Vitf.). Auffallend sind die Ummengen von Fettröpfchen, die schon bei den ungefärbten Diatomeen sofort ins Auge fallen. Sie sind bei der Benennung dieser Form mit bestimmend gewesen.

Fig. 15 der Taf. IV zeigt dieselbe Diatomee auf Agar nach einer entsprechenden Zahl von Abimpfungen aus einer Kultur vom Dezember 1906. Die Diatomee ist bereits um ein Erhebliches kleiner geworden (V = 500; l. M.; Vitf.). Von der kolossalen Fettspeicherung ist nichts mehr zu sehen, trotzdem das Agar auch Pepton und Dextrin, und zwar in denselben Mengenverhältnissen enthielt wie die Gelatine und trotzdem die Diatomeen ein außerordentlich üppiges Wachstum aufwiesen. Es erscheint deshalb nicht unberechtigt, die reiche Fettbildung im ersten Falle auf die Assimilation der Gelatine zurückzuführen.

An der Fig. 15 ist übrigens auch auffallend, daß sämtliche im Gesichtsfeld befindlichen Diatomeen ausnehmend starke Plasmolyse zeigen; diese ist vor der photographischen Aufnahme absichtlich hervorgerufen worden, weil es sich nämlich um den im Kapitel XI⁸ eingehender beschriebenen Versuch handelte. Wie dort erwähnt, wurden die Diatomeen nach erfolgter ausgiebiger Entwicklung durch Tage einer

¹ Kapitel II, p. 13 [669].

² Kapitel XX, 3, p. 106 [762].

³ Kapitel XIII, 3, p. 70 [726].

⁴ Kapitel XVIII, p. 90 [746].

⁵ Zur Erklärung der Bilder benutzte Abkürzungen: Vergrößerung = V; lebendes Material = l. M.; Vitalfärbung mit Neutralrot = Vitf.; totes Material = t. M.; Färbung mit Gentianaviolett = Gv.

⁶ Vgl. Kapitel I, p. 7 [663].

⁷ L. = Länge; Br. = Breite.

⁸ Vgl. Kapitel XI, 2, p. 46 [702].

Temperatur von -8 bis -10° C ausgesetzt, wodurch sie nicht getötet wurden. Als das Agar aufgetaut war, bekam man nach Vitalfärbung mit Neutralrot und Plasmolyse mit Kochsalz das eben beschriebene Bild.

Die nächste Photographie, Fig. 16 der Taf. IV, bezieht sich auf einen gleichen, zur selben Zeit angestellten Versuch über die Einwirkung niederer Temperaturgrade ($V = 500$; l. M.; Vitf.). Auch hier ist absichtlich der Moment der Plasmolyse im Bilde festgehalten worden. Als Versuchsobjekt kam aber eine relativ kleine Diatomeenform in Verwendung, die ganz spontan im Dezember 1906 im Materiale der zweiten Reinzucht¹ auftrat und deren Reingewinnung und Weiterzüchtung gelang.

Die nächsten Bilder machen uns mit den Gestaltsveränderungen bekannt, die inzwischen das Material der ersten, also der März-April-Reinzucht,² durchgemacht hat.

Es wird zunächst nicht schwer fallen, in den Photographien die Bestätigung des Gesetzes von der Erhaltung des Volums³ zu erkennen. Die Diatomeen sind kürzer, aber dafür bedeutend breiter und dicker (Grundriß beiläufig quadratisch)³ geworden als die ursprüngliche Form; vgl. Fig. 17 der Taf. IV ($V = 500$; l. M.; Vitf.).

Die Verschiedenheit der Gestalt fällt am meisten ins Auge, wenn man die Schalenansichten der Diatomeen vergleicht. Während in Fig. 21 und 15 die typische schwächliche, beiderseits zugespitzte Nitzschiengestalt klar hervortritt, hat in Fig. 17 eine breite *Navicula*- die schlanke Nitzschenform verdrängt und sich mit abgerundeten Spitzen versehen. Man kann sich diese Veränderung am besten klar machen, wenn man sich als Modell einen langen schwächtigen Rhombus mit beweglichen Grenzen vorstellt, der auf der Spitze steht, an den stumpfen Ecken gefaßt und in die Breite gezogen wird. Es muß dann eine ganz analoge Veränderung mit dem Modell vor sich gehen, wie sie die Photographie von der Diatomee darstellt.

Es mag hier nur kurz darauf hingewiesen werden, in welcher einschneidender Weise die Diatomeengestalt die Kolonieform beeinflusst.⁴ Vgl. Fig. 20 und Fig. 23 der Taf. IV ($V = 50$; l. M.).

Es ist das ein Ergebnis, das auch die Bakteriologen interessieren dürfte, und das um so mehr, als ihnen bereits analoge Erscheinungen bekannt sind. So »verändern die Pneumoniekokken, die durch Züchtung aus Diplokokken in Kettenkokken verwandelt sind, auch die Form ihrer Kolonien, erscheinen dann nicht mehr mit scharfem, sondern mit gekräuseltem Rand, aus dem die Ketten hervorragen. Die Friedländer'schen Pneumoniebazillen, die nach Wilde in einer kleineren und weniger Schleim bildenden Spielart auftreten können, entwickeln in diesem Falle auf der Gelatine oberflächliche Kolonien, die denen des *B. coli* sehr ähneln, d. h. flach, weniger granuliert und zackig umrandet sind« u. a. m.⁵

Mit der beschriebenen *Navicula*-Gestalt hat die farblose Diatomee noch immer nicht das Ende ihrer Verwandlungskünste erreicht. Sie beginnt auffallende Einbuchtungen in der Mittelpartie zu zeigen, es treten taillenartige Einschnürungen auf, gleichzeitig werden hornartige Vorwölbungen sichtbar, wie sie in Fig. 18 der Taf. IV dargestellt sind. ($V = 500$; l. M.; Vitf.).

Nicht genug daran: Die Diatomeen bekommen durch einseitige Einbuchtung sogar kipfelartige Formen! Vgl. Fig. 19 der Taf. IV ($V = 500$; l. M.; Vitf.).

Diese aparten Gestalten werden dann noch vermehrt durch die Kratikularbildungen, deren eine in Fig. 28 der Tafel IV mit hinlänglicher Klarheit wiedergegeben ist ($V = 500$; l. M.; Vitf.).

Bekanntlich⁶ kommt es bei den Diatomeen vor, daß sie sich unter mehr minder ungünstigen Lebensverhältnissen immer mehr von ihrer Membran zurückziehen und dann zum Schutze des teilweise bloß-

¹ Vgl. Kapitel I, p. 7 [663].

² Vgl. Kapitel I, p. 6 [662].

³ Vgl. Kapitel XIII, 3, p. 68, 69, 70 [724, 725, 726].

⁴ Vgl. Kapitel XX, 5, p. 108 [764].

⁵ Kruse W., I., Variabilität der Mikroorganismen in Flüggé C., I. c., I. Teil, 1896, p. 482.

⁶ Oltmanns Fr., Morphologie und Biologie der Algen, I. Bd., 1905, I. c., p. 131.

gelegten Protoplasten neue Schalen erzeugen, sich wieder zurückziehen usf., wobei vielfach eingeschachtelte Protoplastkörper entstehen.

Endlich sei nochmals auf die gomphonemaartigen Gestalten auf kochsalzarmen Nährböden¹ verwiesen, wie sie Fig. 27 der Taf. IV darstellt ($V = 500$; t. M. nach Fixierung mit Osmiumsäure gefärbt mit Magdalarot).

Ich kann mich nicht enthalten, an dieser Stelle einige Zitate aus Kruse's² »Morphologie der Bakterien« einzufügen, deren Wortlaut wohl selbst die kurze Unterbrechung des aufgenommenen Gedankenganges rechtfertigen dürfte:

»Pneumoniekokken bilden auf Nährböden, die ihnen wenig zusagen, statt der Lanzett- oft Semelformen, statt Ketten zoogloartige Massen.«

»Bei Bazillen kommen körnige, kugelige, spindel-, keulen- und wurstförmige, spiralförmige und verästelte Gebilde vor, die an . . . Monaden . . . erinnern können.«

Man wird durch den Parallelismus, der sich im Verhalten der Bakterien und dem der farblosen Bacillariacee kundgibt, unwillkürlich an die Verwandtschaftstabelle erinnert, die Provazek³ in seiner oft genannten Arbeit aufgestellt hat, um darin die Beziehungen zwischen Protozoen, assimilierenden und nicht assimilierenden Protophyten darzulegen und insbesondere die Stellung der von ihm als *Synedra hyalina* bezeichneten *Nitzschia putrida* im Systeme deutlich zu machen.

Nach dieser kleinen Abschweifung nun wieder zur Schilderung der abnormen Gestalten der farblosen *Nitzschia* zurück! Wir haben also vorläufig eine Fülle von Veränderungen der *Nitzschia putrida* kennen gelernt, die höchst auffallend sind, von denen ich aber, und ich dürfte mich kaum irren, behaupten möchte, daß Benecke das erste Stadium dieser Kette von Umgestaltungen bereits bei seinen Rohkulturen beobachtet hat:

»*N. putrida* zeigte keine derartigen unregelmäßigen (unten erklärten) Involutionsformen, wohl aber kam es vor, daß auch sie dadurch vom Typus etwas abwich, daß sie in der Mitte schwach aufgebaucht war, wenn man sie in der Gürtellage besah.«⁴

Als wichtig für die spätere Interpretation meiner Beobachtungen mag auch gleich die Fortsetzung dieser Stelle in Benecke's Arbeit angeführt werden:

»Fig. 12, Taf. XIII, zeigt einen solchen Fall; es ist mir zweifelhaft, ob diese Form mit der typischen *putrida* wirklich zu einer Art zusammenzuziehen ist; doch tue ich es der Einfachheit halber, um so mehr, als Übergangsformen zwischen dem Typus und Fig. 12 vorkamen.«⁴

Es fragt sich nun, 1. ob zunächst bei anderen farblosen Diatomeen Erscheinungen beobachtet werden, die einigermaßen mit den beschriebenen Veränderungen an der *Nitzschia putrida* vergleichbar wären, 2. ob auch bei braunen Diatomeen ähnliche Veränderungen vorkommen, 3. ob die an der farblosen *Nitzschia* festgestellten Abweichungen vom normalen Baue nicht vielleicht auch bei Grünalgen ihr Analogon fänden und 4. welche Erklärung man sich bezüglich ihrer Entstehungsweise nach dem heutigen Stande der Wissenschaft bilden soll.

Da kann ich nun zunächst wieder auf Benecke⁵ verweisen, der bei der *Nitzschia leucosigma* »eigenartige Involutionsformen« gesehen hat, die er »ursprünglich mit der Auxosporenbildung glaubte in Zusammenhang bringen zu müssen.«

»Doch starben dieselben, in Kultur genommen, immer nach einiger Zeit ab, so daß« er sich »der eben genannten Deutung zuwendete.« »Sie traten immer auf in alternden Kulturen, deren Erschöpfung der Vermehrung der Nitzschien ein Ziel setzte. Oft wichen sie von der normalen Form dadurch ab, daß sie in der Mitte regelmäßig aufgebaucht waren.« »Häufig war aber auch die Auf-

¹ Vgl. Kapitel II, p. 13 [000].

² Kruse W., II., »Allgemeine Morphologie der Bakterien« in Flüggé C., I. c., I. T., p. 62 u. 63.

³ Provazek S., I. c. p. 72.

⁴ Benecke W., I., I. c., p. 545.

⁵ Benecke W., I., I. c., p. 544, 551 u. 565.

blähung eine durchaus unregelmäßige.« »Nicht selten bestand auch die Involution darin, daß die Schalen an einem Ende viel weiter auseinander geschoben waren, als am andern, so daß der Eindruck erweckt wurde, als hätten die Zellen nur noch am einen Ende die nötige Kraft zum Wachstum gehabt. Daß solche Formen noch lebten, ergab schon ohne weiters ihre Beweglichkeit.«¹

Auch eine Stelle aus Karstens² Arbeit verdient hier zitiert zu werden:

»In vereinzelt Individuen bemerkte ich unter den übrigen Exemplaren eine etwas abweichend geformte *Nitzschia*, deren Schalenumrisse an die Unterabteilung *Hantzschia* erinnern, doch befanden sich die beiden Raphen in normaler Orientierung. Da erst genauere Untersuchungen, die bei dem spärlichen Material nicht möglich waren, feststellen könnten, ob nur etwas abweichende Exemplare von *Nitzschia putrida* vorliegen, oder eine zweite saprophytische Form von derselben Größe, so mag dieser Hinweis und die Fig. 11 und 12, welche die Form zeigen, genügen.«

Was nun die braunen Süßwasserdiatomeen anlangt, so fand ich tatsächlich in meinen Rein-kulturen der *Nitzschia Palea* und der *Navicula minuscula* Formveränderungen, die ohne Zweifel den entsprechenden der *Nitzschia putrida* vergleichbar sind.

Es dürfte auch nicht unpassend erscheinen, hier auf eine in der Literatur zu wenig beachtete Stelle in einer der vielen Arbeiten Miquels³ über Diatomeen hinzuweisen, die mir den Beweis zu erbringen scheint, daß auch er schon ähnliche Veränderungen seines braunen Versuchsmaterials aufgefunden hat, wie sie für die reingezüchtete farblose Diatomee eben beschrieben worden sind.

Die zitierte Stelle enthält gleichzeitig die Vorstellung, die sich Miquel von dem Grunde der merkwürdigen Veränderungen der »Schalen« gemacht hat. Die schlechte Ernährung des Kerns soll der Grund sein, wie denn Miquel überhaupt dem Kerne bei der Regeneration der Schale, ja sogar bei der Ausbildung der verschiedenen Zeichnungen auf den Schalen der Diatomeen eine einschneidende Bedeutung zuerkennt.⁴ Wenn man dabei aber bedenkt, auf wieviele Ausnahmen man heute schon bei der Überprüfung der Haberlandt'schen⁵ Hypothese von der Rolle des Kerns bei der Membranbildung gestoßen ist⁶, wird man auch der zeichnerischen und architektonischen Leistungsfähigkeit des Miquel'schen Diatomeenkernes gegenüber einige Reserve bewahren. Auch muß bei meinen Kulturen betont werden, daß hier nach dem erfolgten Überimpfen der abnormen Formen auf neue Nährböden doch keineswegs von mangelhafter Ernährung gesprochen werden kann. Freilich war ich, wie schon angedeutet wurde⁷ und noch erörtert werden wird⁸, in der Lage, durch Nahrungsmangel viele der besprochenen Formen künstlich hervorzurufen, und die Kratikularbildungen müssen als typische Hungerformen angesehen werden.

Ebenso ließen sich die beobachteten auffallenden Gestaltveränderungen mit analogen bei Grünalgen auf Agar-, Gelatineplatten oder in Nährlösungen aufgetretenen vergleichen, wie sie Beijerinck,⁹ Senn,¹⁰ Artari¹¹ und in letzter Zeit Gernek¹² gesehen haben.

¹ Benecke W., I, I. c., p. 544—545. Vgl. damit die Photographie 27 der Taf. IV.

² Karsten G., I, I. c., p. 426.

³ Miquel P., Recherches expérimentales sur la physiologie, la morphologie et la pathologie des Diatomées. XI. Du rétablissement de la taille et de la rectification de la forme chez les Diatomées. Annales de Micrographie, Décembre 1893, p. 27.

⁴ Miquel P., Décembre 1893, I. c., p. 26 u. f. — Miquel P. Recherches etc., I. c., Octobre 1893, X. Du noyau chez les Diatomées.

⁵ Haberlandt G., Über die Beziehungen zwischen Funktion und Lage des Zellkerns bei den Pflanzen. Jena, 1887. Verl. v. G. Fischer.

⁶ Vgl. bloß die jüngste Arbeit über dieses Thema von Küster E., Über die Beziehungen der Lage des Zellkerns zu Zellwachstum und Membranbildung. Flora, Jg. 1907, Bd. 97, I. H. p. 1.

⁷ Siehe Kapitel II, p. 13 [669], Kapitel III, p. 20 [676] und Kapitel XVI, 6, p. 83 [739].

⁸ Siehe p. 97 [753]. — Vgl. endlich Olmanns Fr., Notizen über die Kultur- und Lebensbedingungen der Meeressalgen. Flora, 80. Bd., Jg. 1895, p. 46 u. 47.

⁹ Beijerinck, M. W., »Kulturversuche etc.« I. c., 1890, p. 729.

¹⁰ Senn G., Über einige koloniebildende Algen. Basel 1899, Bot. Zeitg. 1899, 57. Jg., p. 90.

¹¹ Artari A., Untersuchungen über Entwicklung und Systematik einiger *Protococcoiden*. Bull. de la Soc. Imp. des Natur. de Moscou 1892. — Artari A., Der Einfluß der Konzentrationen etc., I. c., I, Bd. 40, 1904. p. 609—610. Beobachtungen an *Stichococcus bacillaris* und *Xanthoria parietina*.

¹² Gernek R., Zur Kenntnis der niederen Chlorophyccen. 1907, p. 221. Vgl. auch Küster E., Pathologische Pflanzenanatomie. Jena 1903. Verl. v. G. Fischer, p. 125, und: »Eine kultivierbare Peridinee«. Archiv für Protistenkunde 1908, 11. Bd., p. 351. Da diese interessante Publikation erst während der Drucklegung der vorliegenden Arbeit erschien, konnte sie nicht mehr berücksichtigt werden.

Und die derzeitig dem Stande der Wissenschaft am meisten entsprechende Erklärung?

Hugo de Vries¹ hat uns in seiner Mutationslehre mit der Tatsache vertraut gemacht, daß plötzlich unvermittelt neue primäre Arten mit ganz bestimmten Merkmalskomplexen einer primären Art entstehen können und stützt seine Ausführungen durch seine Versuche mit dem klassischen Versuchsobjekt, der *Oenothera Lamarckiana*. Und zweifellos sind die beigegebenen Bilder sprechende Belege für die von ihm vorgetragene Theorie.

Diese primären Arten sind dadurch charakterisiert, daß sie, mit dem eigenen Pollen bestäubt und nach den Regeln der künstlichen Zuchtwahl separiert, durchaus konstant bleiben.

Vergleicht man mit diesen Ergebnissen die Befunde an der *Nitzschia putrida*, so möchte ich zunächst meiner Überzeugung Ausdruck verleihen, daß man vom systematischen Standpunkte gewiß bei Unkenntnis des Zusammenhanges der Kipfel- und Spitzrhombenformen der *Nitzschia* die Individuen der einen und der anderen Art für völlig voneinander verschiedene Arten angesehen hätte.

Inwieweit genügen die neuen Gestalten übrigens dem Begriffe einer primären Art im Sinne de Vries? Besitzen sie zunächst das wichtigste Merkmal konstanter Arten? Sind die Merkmalkomplexe erblich? Antwort: Ja; mit einer gewissen Einschränkung: erblich, bis zu einem gewissen Zeitpunkte, mit dem wir uns gleich noch etwas eingehender befassen werden.

Die Belegbeispiele mögen den Erfahrungen an der Navicula- und Kipfelform entnommen sein, die am eingehendsten nach dieser Richtung studiert wurden. Von den anderen Formen gilt übrigens das gleiche:

Die Naviculaform entwickelte sich ganz allmählich, indem die Diatomeen immer kleiner und dabei immer dicker wurden. Beim Überimpfen traten wieder kürzere und noch dickere Formen auf usf., bis die Formen zu sehen waren, die in Fig. 17 der Taf. IV dargestellt sind. Es geht somit diesem Naviculatypus das Merkmal der Erblichkeit nicht ab.

Die Kipfelform trat fast unvermittelt auf. Als Übergang möchte ich bloß ansehen jene mehr minder geknickten und gebogenen Gestalten, die dadurch zustande kamen, daß sie mit zu ihnen senkrecht orientierten Diatomeen zwischen anderen völlig eingekeilt lagen und wegen Wachstumshemmung auf der einen Seite sich normal bloß auf der anderen entwickeln konnten und dadurch notgedrungen kipfelförmig werden mußten. Da die eine Kolonie, von der die betreffenden mikroskopischen Präparate stammten, die Kipfelform rein zu enthalten schien, wurde von ihr in eine neue Schale überimpft, sie so von der Naviculaform, neben der sie in einer Petrischale aufgetreten war, abgeimpft und auf diese Art eine absolute Reinkultur der Kipfelform erzielt, wo sie in Kolonien in Tausenden und aber Tausenden von Individuen die einzig herrschende Gestalt darstellte. Es wäre also auch hier eine zweifellose Erblichkeit der Merkmale für eine Fülle von Generationen nachgewiesen. Und man wäre somit berechtigt, von neuen Arten zu sprechen.

Wenn ich das trotzdem nicht tue, so sind für mich erstens die weiteren Formveränderungen maßgebend, die sich in der Folge bei der Navicula-, der Kipfel- und all den anderen Gestalten in sämtlichen älteren Diatomeenkolonien erster und, wie ich jetzt nach zweijähriger Beschäftigung mit der Frage versichern kann, auch der zweiten Reinzuchtprovenienz beobachten ließen, und zweitens die schon von de Vries betonte Tatsache, daß es auch Ernährungsvariationen² gibt, die oft täuschend neuen Arten ähnlich sehen.

Bekanntlich treten solche bei Überfütterung oder überreichlicher passender Ernährung auf. Nun stellt Pepton-Dextrin-Agar oder Gelatine in Triester Meerwasser ein ausnehmend geeignetes Nährsubstrat vor, wie schon dargelegt wurde.³ Es ist also auch die zweite Auffassung der beschriebenen Formen als Ernährungsvarietäten nicht ohneweiters von der Hand zu weisen. Dagegen spricht nicht die p. 13 und 20

¹ Vries Hugo de, Die Mutationstheorie, Leipzig 1901. Verl. v. Veit u. Comp.

² Vries Hugo de, l. c., Bd. I, p. 93.

³ Vgl. Kapitel VI, p. 28 [684].

[— und —.] kurz berührte Erfahrung von dem Auftreten der aparten Formen auch bei äußerst ungünstiger Ernährung. Es läßt sich ja ganz gut denken, daß nicht nur ein Überfluß, sondern auch ein Mangel am Notwendigen in gleichem Sinne reizauslösend zu wirken vermag.

Der Hauptgrund, warum ich mich nun für diese zweite Auffassung entschieden habe, liegt in dem ganz plötzlichen Zurückkehren aller dieser abnormen Gestalten in die ursprüngliche Stammform. Ihre Eigenschaften sind also nur bis zu einem bestimmten Zeitpunkte erblich und sie selbst sind Übergangsgestalten einer gemeinsamen Urform.

Hat man irgendeine der oben beschriebenen Gestalten in absoluter Reinkultur und züchtet sie weiter, so kommt plötzlich ein Moment, wo ohne jede Vermittlung die Kulturschale ganz übersät erscheint von Kolonien der großen Stammform. Von einer Auxosporenbildung im gewöhnlichen Sinne konnte ich dabei durch mikroskopische Untersuchung gar nichts nachweisen.

Die Erklärung dieser auffallenden Erscheinung kann nur entweder im Anschluß an die hochinteressanten Beobachtungen von Karsten über Auxosporenbildung, insbesondere an *Synedra affinis*¹ und *Nitzschia longissima*² darin zu suchen sein, daß von mir, weil ohne Färbemethoden einfach nicht feststellbar, unbeachtet in den Schalen »reduzierte Auxosporenbildungen« vorgekommen sind oder so gegeben werden, daß dieses Auftreten der Stammform gedeutet wird als sprunghaftes Zurückkehren zur ursprünglichen Gestalt, als Mutation nach oben, zum Größeren, dem Auftreten der *Oenothera Lamarckiana gigas* de Vries analog, und als das Gegenstück zu dem Auftreten der Zwergform der Fig. 16 der Taf. IV.

Auch hier kann auf einige Erfahrungen Miquel's verwiesen werden, der ähnliches beobachtet, es aber nicht weiter ausgewertet zu haben scheint.

Mag nun die Deutung so oder so ausfallen, wesentlich ist die Rückkehr zur Urform und damit schließt sich der Kreis und vergewissert uns gleichzeitig, daß wir es hier mit einer Aufeinanderfolge verwandter zu einem Entwicklungszyklus gehörigen Formen zu tun haben und berechtigt sind, uns für die Auffassung derselben als Ernährungsvariationen zu entscheiden.

Die infolge dieser Erkenntnis gewählten Namen³ lauten:

<i>Nitzschia putrida</i> var. <i>gigas</i> sive <i>pinguis</i> (riesig oder fett)	Gelatineform
» » » <i>longa</i> (lang)	Agarform
» » » <i>nanella</i> sive <i>parva</i> (zwerpig oder klein)	»
» » » <i>naviculaeformis</i> sive <i>lata</i> (naviculaartig oder breit)	»
» » » <i>cornuta</i> (gehörnt)	»
» » » <i>siliginea</i> (kipfelartig)	»

Dazu kommt noch die Form *Nitzschia putrida* var. *gomphonemiformis* sive *triangulata* (gomphonemaartig oder dreieckig). » , die in 1^o/₀ ClNa bei der ersten Reinzucht in einer Unzahl Kulturen auftrat und die entweder als

¹ Karsten G., Untersuchungen über Diatomeen. II. Flora 1897, Bd. 83, p. 33.

² Karsten G., Untersuchungen über Diatomeen. III. Flora 1897, Bd. 83, p. 207. — Insbesondere auf die zweite Arbeit wird später noch genauer eingegangen werden müssen, vgl. p. 98 [754].

Schon Schmitz Fr. (Die Bildung der Auxosporen von *Cocconema Cistula* Ehrbg., Bot. Zeitg. 1872, 30. Jg., p. 123) hat Auxosporenbildungen gesehen, »bei denen die eine Zelle abstarb, noch bevor sie irgend begonnen hatte, die alten Schalstücke zu öffnen und abzuwerfen. Doch blieb dies auf die zweite Zelle stets ohne den geringsten nachteiligen Einfluß. Dieselbe entwickelte sich vielmehr ganz in der regelmäßigen Weise zur Auxospore«. Auch Schütt Fr., Auxosporenbildung von *Rhizosolenia alata*, Ber. d. D. b. Ges. 1886, Bd. IV, p. 10, sah »weder eine Schleimhülle noch überhaupt kopulierende Paare«.

Vgl. auch Oltmanns Fr., l. c., I. Bd., 1904, p. 126 u. f. und Klebahn H., Beiträge zur Kenntnis der Auxosporenbildung etc. Verh. d. Ges. d. Naturf. u. Ärzte in Lübeck, 1895, II, 1, p. 102, Leipzig 1896 u. Pringsh. Jb. f. w. B. 1896, 29. Bd., p. 595.

³ Wie bereits die Durchsicht der Arbeit gelehrt hat, habe ich mich für die zuerst stehenden Namen als endgültig verwendbare entschieden. Vgl. Richter Oswald, III, l. c., p. 280.

Ergebnis des geringen Kochsalzgehaltes allein oder dieses und langer Zucht, Dichtwuchs und Kratikularbildung angesehen werden kann.

Daß gewisse Diatomeen auf äußere Einflüsse ungemein rasch und ausgiebig reagieren, mag auch noch an einem Beispiel illustriert werden, mit dem uns Karsten¹ bekannt gemacht hat. Es wird dessen Anführung gewiß zur Stütze für die geäußerte Auffassung dienen.

Bekanntlich hat sich Karsten mit der Frage nach der Abhängigkeit der Formänderungen der *Skeletonema costatum* (Grev.) Grun. von äußeren Faktoren beschäftigt und nachweisen können, daß die Diatomee wesentlich verschieden aussieht, wenn sie in stehendem oder in stark bewegtem Wasser gehalten wird. Bei starker Bewegung des Wassers werden Kieselstäbchen als Schwebereinrichtungen zwischen die einzelnen Diatomeen zwischengelagert, deren Ausbildung bei ruhigem Stehen in Aquarien ohne Wasserbewegung unterbleibt. Wenn nun wie hier ein physikalischer Faktor, die mehr oder minder starke Bewegung des Wassers, und vielleicht auch ein chemischer, der geringere Zutritt von Sauerstoff, auf die als Schwebearganismus freilich exquisit ausgezeichnete Diatomee einen so ausgiebigen Einfluß äußert, warum sollten die chemischen Faktoren der Ernährung auf die *Nitzschia putrida*, die als Saprophyt² und als Natriumpflanze³ auch gewissermaßen eine ausgezeichnete Stelle einnimmt, nicht in ähnlicher Weise formverändernd wirken?

Es scheint mir hier auch nicht unpassend, zum Vergleich die Untersuchungen von Otto Müller⁴ und Gran⁵ heranzuziehen, die das unvermittelte Auftreten neuer elementarer Arten⁶ bei Melosiren und Rhizosolenien beobachten konnten, deren Untersuchungen über diese Frage aber noch insofern eine gewisse Ergänzung benötigen, als ihnen Reinkulturen der fraglichen Formen fehlen und sie somit die Frage nach der eventuellen Rückkehr der »neuen primären Art« in die Urform unbeantwortet lassen mußten.

Plasmodien.

Die früher erwähnte reduzierte Auxosporenbildung oder sprungweise Rückkehr zur Urform scheint nicht der einzige Modus zu sein, mit dem sich die farblose Diatomee vor dem durch die dauernde Zerteilung und durch das mit ihr verbundene Kleinerwerden bedingten schließlichen Untergang bewahrt. Man sieht nämlich, wie bei hinlänglich langer Kultur bei allen genannten Kulturderivaten in Schalen, wo nicht die sprungweise Rückkehr zur Urform auftrat, einige Zellen ihren protoplasmatischen Inhalt austreten lassen, wie die nackten Plasmaklumpchen der verschiedenen Zellen zusammenfließen (Fig. 12, Taf. III) und zum Schlusse nackte Plasmodien bilden, die sich im übrigen verhalten wie solche von Schleimpilzen, also pseudopodienartige Vorstülpungen treiben, im Gesichtsfeld langsame Bewegungen

¹ Karsten G., Die Formveränderungen von *Skeletonema costatum* (Grev.) Grun. und ihre Abhängigkeit von äußeren Faktoren Kiel, 5. März 1898. Es sei anschließend auch auf die Beobachtungen von Wesenberg C. (Lund, Plankton investigations of the Danish lakes, Copenhagen, Gyldendalske Boghandel. Nordisk Forlag. 1908, p. 18), verwiesen, der an *Asterionella* eine Art Variation feststellte, die mit dem im Frühjahr und Sommer zu beachtenden physikalischen Verhalten des Wassers zusammenhängen mag, indem im Frühjahre ketten-, im Sommer sternförmige Kolonien auftauchen, bei denen hinwiederum die Schwebefähigkeit durch die Zahl der Strahlen reguliert wird. Wesenberg spricht von »Temperaturformen«, p. 35, und zwar rufen niedere Temperaturen die Ketten-, höhere die Sternformen hervor. Anschließend möchte ich bemerken, daß es mir in der jüngsten Zeit geglückt ist, die *Asterionella* auf Agar zu ziehen und zu fragilariaartigem Wachstum zu zwingen.

² Vgl. Kapitel III, p. 18 [674].

³ Vgl. Kapitel II, p. 17 [673].

⁴ Müller O. I. Sprungweise Mutation bei Melosiren. Ber. d. D. b. Ges., 1903, Bd. XXI, p. 326. — II. Bacillarien aus dem Nyassalande. II. Folge. Engler's Bot. Jahrb., Bd. XXXIV, p. 256, 263, 269, 275. — III. Pleomorphismus, Auxosporen und Dauer-sporen bei *Melosira*-Arten. Pringsh. Jb. f. w. B., 1906, Bd. XLIII, H. 1, p. 49.

⁵ Gran H. H., Die Diatomeen der arktischen Meere. I. Teil: Die Diatomeen des Planktons. Verlag v. G. Fischer, Jena 1904. *Rhizosolenia hebelata* Bailey, p. 525.

Endlich sei auch zum Vergleiche auf die Bemerkung von Schütt F. (l. c., p. 12) verwiesen: »Die Auxosporen von *Rhizosolenia alata* sind von der gewöhnlichen Auxosporenform der Diatomeen so verschieden, daß sie von den älteren Beobachtern nicht als solche gedeutet, sondern als verschiedene Arten oder Varietäten derselben Art aufgefaßt wurden.«

⁶ Vries Hugo de, I, l. c., p. 176.

Denkschr. d. mathem.-naturw. Kl. Bd. LXXXIV.

ausführen u. dgl. m.,¹ was mir übrigens manche Photographie verdorben hat (man vergleiche die Skizzen der Fig. 5 p. 77 [733]).

Die Figuren 24, 25 und 26 der Tafel IV zeigen solche Plasmodien. Fig. 25 und 26: $V = 500$; l. M.; Vitf.; die Fig. 24 stellt ein Riesenplasmodium dar, das zwei ganze Kolonien umfaßte ($V = 50$; l. M.). Hier haben sich die Kolonien in eine zusammenhängende Plasmamasse verwandelt, in der noch die einzelnen Diatomeen suspendiert erscheinen. Auch bei den anderen Bildern ist die Provenienz aus den Diatomeen zweifellos zu erkennen, indem den Plasmodien noch die Schalen der Diatomeen, aus denen sie hervorgingen, anhaften. Leider sind die Konturen der Plasmodien bei der Reproduktion etwas undeutlich geworden. Die Zusammengehörigkeit dieser abnormen Bildungen und der Diatomeen konnte übrigens auch noch mit Hilfe der Lebendfärbung mit Neutralrot² und durch Feststellung der gleichen mikrochemischen Zusammensetzung erbracht werden, wenn überhaupt bei den verwendeten Reinkulturen ein Zweifel an der Zusammengehörigkeit beider auftauchen kann.

Wie soll man sich nun diese Bildungen erklären? Auf diese Frage läßt sich heute nur mit Vermutungen antworten, doch können die Vermutungen teils durch Vergleich mit älteren und neuesten Entdeckungen auf dem Gebiete der Algologie, insbesondere der Diatomeenkunde und durch solche der Mykologie, teils durch bestimmte Experimente einigermaßen gestützt werden.

Höchst auffällige und meines Wissens in keinem algologischen Werke reproduzierte Erscheinungen hat Miquel³ bei der Wiederherstellung der Form der *Nitzschia Palea* und anderer Nitzschien beobachtet, die eine entfernte Ähnlichkeit mit den besprochenen Bildungen besitzen.

Miquel⁴ sah, wie sich nach einer bestimmten Zahl von Überimpfungen das Protoplasma gewisser Diatomeen dieser Art zunächst von den Schalen abhob, um dann nach zwei diametral entgegengesetzten Richtungen in die Länge zu wachsen, bis der so gebildete Plasmaschlauch eine Größe von rund 68μ erreicht hatte. Bei dieser Streckung muß der Schlauch natürlich die ihn umschließenden Schalen sprengen und es ist dann selbstverständlich, daß dabei häufig die Schalen an ihm haften bleiben. Das so entstandene aparte Gebilde vergleicht Miquel einem fadenförmigen Thallophyten (Alge oder Pilz). Denn es sei nicht einen einzigen Moment nackt, sondern stets von einer Membran umgeben. Miquel nennt diese Bildungen Auxosporen, doch sollen sie ohne Befruchtung gebildet sein.

»Les auxospores ne sont à aucun moment de leur croissance constituées par du protoplasma nu.«⁴

»Le protoplasme recouvert d'une membrane extensible adopte le mode d'accroissement qu'on remarque si fréquemment chez les espèces inférieures dont le thalle est continu.«⁵

»Il reste incertain si les microfrustules sont avant leur germination l'objet d'une fécondation particulière.«⁶

Da die von Miquel beschriebenen Gebilde stets behütet waren, sind sie entschieden etwas anderes als die in den Photographien dargestellten Bildungen.

Die Auxosporenbildung ist gerade in jüngster Zeit vielfach Gegenstand eingehender Untersuchungen gewesen.⁷

Und da komme ich denn zunächst auf Karsten's⁸ Angaben und Bilder der Auxosporenbildung von *Nitzschia longissima* (Bréb.) Ralfs zurück, bei der er beobachten konnte, wie sich der Plasmahalt von

¹ Siehe Kapitel XIV, p. 76 [732].

² Siehe Kapitel XVIII, p. 90 [746].

³ Miquel P., l. c., Octobre-Novembre 1892. Du rétablissement de la forme dite sporangiale chez la *Nitzschia Palea*, p. 25.— l. c., Décembre 1893. XI. Du rétablissement de la taille et de la rectification de la forme chez les Diatomées, p. 4.

⁴ Miquel P., l. c., Octobre-Novembre 1892, p. 27.

⁵ Derselbe, l. c., Décembre 1893, p. 7.

⁶ Derselbe, l. c., Octobre-Novembre 1892, p. 30, Punkt 5. Ich möchte hier auch auf eine Stelle in Miquel's Arbeiten verweisen (Décembre 1893, l. c., p. 6), wo er sich gegen F. Graf v. Castracane wendet, der die als Auxosporen bezeichneten Protoplasmaegebilde monströs und unbegründet nennt (monstrueuses et d'infécondes). (Castracane F., De la reproduction des Diatomées. Le Diatomiste, T. II, 1893—1896, p. 4 ff. — Ders. ibid. p. 118.) — Vgl. auch Karsten's Urteil (Das ind. Phytoplankton, l. c., p. 492).

⁷ Vgl. darüber die zusammenfassende Darstellung des bisher Bekannten in Oltmann's Fr., I, l. c., p. 122.

⁸ Karsten G., Untersuchungen über Diatomeen, III, l. c., p. 208.

den Schnäbeln zurückzog und wie nach vollendeter Kernteilung eine Trennungslinie in der Mitte der Plasmamasse der Länge nach auftrat. Dabei geht die Kontraktion weiter, zunächst an den am freien Ende auseinander klaffenden Schalen entlang bis zur Kugelform. »Die beiden Tochterzellen liegen dann als freie kugelige Plasmamassen¹ nebeneinander (Fig. 17).« Eine Verschmelzung der Tochterindividuen beobachtete er nie, doch hält er sie wegen der bauchig angeschwollenen Formen, die nun entstehen, für sehr wahrscheinlich.

»Eine mit dem Perizon umgebene Plasmakugel« beobachtete Müller² »vor Anlage der Schalen, mit einer anhängenden Mutterzellohlfte bereits von den übrigen Fadenteilen losgelöst«.

Plasmakugeln bilden sich aber besonders in Flüssigkeiten auch bei den farblosen Diatomeen. Es scheint sich somit um Auxosporenbildungen³ zu handeln. Und doch stimmt zur normalen Auxosporenbildung nicht die Tatsache von der Verschmelzung vieler Individuen, die auch histologisch gestützt zu werden vermochte.

Fig. 22 der Taf. IV stellt ein mit Osmiumsäure fixiertes, mit Gentianaviolett gefärbtes und in monochromatischem Lichte aufgenommenes Plasmodium dar ($V = 500$. t. M; Gv.).

Zwischen dem heller gefärbten Plasmagerüste bemerkt man in der Photographie einen intensiv schwarz gefärbten großen Kern. In manchen Fällen sah man auch zwei große Kerne. Wenn man nun weiß, wie schwer der Kern der einzelnen normalen Diatomee zu färben und sichtbar zu machen ist und vergleicht, wie außerordentlich klein er ist gegenüber diesem relativen Riesenkerne, wird man in seiner Bildung und Größe eine Bestätigung mehr sehen⁴ für die Fusion von Diatomeenindividuen bei der Bildung der Plasmodien.

Auffallend bleibt aber die Vereinigung von Diatomeen zu Plasmodien ohne echte Auxosporenbildung immer noch. Für die Erklärung dieser Erscheinung findet man in der Algologie das Analogon nicht, wohl aber dürfte sie sich durch Heranziehung gewisser neuester Untersuchungen auf dem Gebiete der Mykologie finden lassen.

Bekanntlich hat uns Blakeslee⁵ in jüngster Zeit mit der Zweigeschlechtigkeit der Mucorineen bekannt gemacht; er nannte wegen seiner schwächlichen Eigenschaften den einen den Minus —, den andern den positiven, + Mucor, und konnte feststellen, daß nur beim Impfen beider auf ein und dieselbe Schale Zygosporien entstanden, aus denen nachher kräftige, weil durch Geschlechtsakt entstandene, Pilze hervorgingen. Kultivierte er aber jeden Mucor allein, so bemerkte er bald an dem — Mucor auffallende Degenerationserscheinungen, die erst verschwanden, wenn er den + Mucor zu dem degenerierten impfte und so durch Kopulation Regenerationserscheinungen hervorrief.

Nun erfolgt doch wohl normalerweise die Regeneration der Diatomeen durch echte Auxosporenbildung, also einen Geschlechtsakt. Die reingezüchteten Diatomeen, insbesondere die der zweiten Reinzucht sind aber alle zweifellos Kinder je einer Urahne, also entstanden durch Teilung und

¹ Von mir gesperrt.

² Müller O., Pleomorphismus, Auxosporen und Dauersporien bei *Melosira*-Arten. Pringsh. Jb. f. w. B., 1906, Bd. 43, H. 1, p. 72.

³ Benecke W., I (l. c., p. 565) versuchte es übrigens auch, durch Wechsel der Temperatur, der Beleuchtung, Einwirkung direkten Sonnenlichtes usf. Auxosporenbildung bei der *Nitzschia putrida* hervorzurufen, doch ohne den gewünschten Erfolg.

⁴ Es sei hier noch besonders hervorgehoben, daß die Ansicht über die Entstehung des beschriebenen Riesenkernes vorläufig durch gar nichts anderes als den Zusammenfluß der Plasmamassen gestützt ist. Es ist also ebensogut möglich, daß die Kerne aller anderen zum Plasmodium vereinigten Diatomeen zugrundegegangen sein können und bloß ein Kern hypertrophierte. Jedenfalls wird man bei Betrachtung insbesondere der Fig. 22 auf Taf. IV an Tischler's interessante Riesenzellen aus den Älchenwurzelgallen von *Circaea lutetiana* erinnert, so daß man geneigt ist, das Plasmodium als Riesenzelle aufzufassen, die ihre sämtlichen Nachbarn aufgezehrt hat. Auch möchte ich hier noch auf die unzweifelhaft ins Auge springenden Relationen zwischen Kern- und Zellgröße verweisen, wie sie uns aus den Untersuchungen von Gerassimoff, Strasburger, Hertwig, Driesch und Chambers bekannt sind. (Literatur vgl. Küster E., Pathologische Pflanzenanatomic, I. c., p. 128 und Chambers R., I. c., p. 659—661).

⁵ Blakeslee A. F., Sexual Reproduction in the *Mucorineae*. Proceedings of the American Academy of Arts and Sciences, XI., 4, 1904. Ausführliches Referat Nat. Rundschau 1905, XX. Jahrg., p. 107.

Vergrößerung ein und desselben Protoplasmas, mit anderen Worten, alle aller Wahrscheinlichkeit nach¹ vom selben Geschlechte. Dabei bleibt es natürlich gleichgültig, ob wir sie positiv oder negativ, männlich oder weiblich, heißen wollen. Das Maßgebende wäre der gemeinsame Ursprung.

Jedenfalls gelang es mir nie, durch Impfung von Individuen der ersten zu anderen der ersten oder zweiten Reinzucht echte Auxosporen zu erzielen. Es ist nun nicht unmöglich, daß die Diatomeen durch Zucht derzeit an jenem Punkte angelangt sind, wo sie aus inneren Ursachen zum normalen Geschlechtsakte, der Auxosporenbildung, neigen. Nun würde aber der andersgeschlechtige Partner fehlen und so »kopulieren« die gleichgeschlechtigen untereinander, fließen zusammen und bilden jene abnormen plasmodienartigen Massen, die man somit als falsche Geschlechtsbildungen oder Pseudoauxosporen bezeichnen könnte.

Pseudoauxosporen wären also Plasmodien, die durch Fusion gleichgeschlechtiger Diatomeen entstünden und wären damit unterschieden von den echten Auxosporen, die sich aus der Verschmelzung zweier verschiedengeschlechtiger Diatomeen herleiten und auch zu unterscheiden sein würden von den ungeschlechtlichen Auxosporen oder von Auxosporen mit reduziertem Geschlechtsakt, die Miquel² bei *Nitzschia Palea* und Karsten³ bei *Synedra affinis* Ktzg. u. a. auffand, die ich zum Unterschiede als Parthenoauxosporen bezeichnen möchte.

Die Sache wäre natürlich mit einem Schlage entschieden, wenn man den anderen Elter in Reinkultur bekäme. Vorläufig besitze ich ihn nicht, denn alle Zusammenimpfungen von Formen der verschiedenen Reinzuchten mißglückten, wie gesagt, stets.

Die Ansicht, daß die plasmodienartigen Massen mit der Auxosporenbildung, also dem Geschlechtsakte, in irgend einem Zusammenhange stehen, dürfte aber auch noch dadurch eine Stütze erfahren, wenn gezeigt würde, daß bei anderen Algen dem Geschlechtsakte auch plasmodienartige Stadien vorausgehen.

So wiesen Klebs⁴ und Luther⁵ für eine ganze Anzahl Grünalgenschwärmer amöboide Stadien vor der Kopulation nach. Oltmanns⁶ ergänzte diese Befunde bei *Tribonema (Conferva)*. Pascher⁷ zeigte das Gleiche für *Draparnaldia*⁴-Gameten und beobachtete nach privater Mitteilung, daß auch bei der Makrozoosporenbildung bei *Aphanochaete* amöboide Zustände vorkämen. Stahl⁸ hat bei *Vaucheria geminata* etwas ganz Ähnliches beschrieben. Er hat den Zerfall des Plasmas der Zysten in Klümpchen und amöboide Bewegungen des austretenden Plasmas gesehen, wenn es sich dabei nicht etwa um Parasiten handelt, wie Lotsy⁹ meint. Es kommen somit ganz zweifellos bei den Grünalgen amöboide Zustände vor, weshalb es uns nicht zu wundern braucht, daß auch die farblosen Diatomeen unter Umständen ähnliche Erscheinungen aufweisen können. Und da nun gerade diese gewissen amöboiden Umlagerungen bei den Grünalgen oft während der Geschlechtsperiode auftreten, so würde auch hier die Nähe derselben anzunehmen sein und damit die Ansicht von der Pseudoauxosporenbildung gestützt werden.¹⁰

¹ Denn nach unseren Erfahrungen liefern im allgemeinen, den Fall der seitlichen Kopulation bei *Spirogyra tenuissima* vielleicht ausgenommen, männliche Pflanzen männliche, weibliche wieder weibliche Individuen.

² Miquel P., Octobre-Novembre 1892, l. c., p. 27.

³ Karsten G., Untersuchungen über Diatomeen, II, l. c., p. 33.

⁴ Klebs G., Die Bedingungen der Fortpflanzung bei einigen Algen und Pilzen. Jena 1896, Verlag von G. Fischer. *Conferva* p. 349, *Draparnaldia* p. 420.

⁵ Luther A., Bih. till. kgl. svenska Vet. Akad. Handl. 1899. XXIV, 3, N. 13.

⁶ Oltmanns Fr., l. c., I, p. 21.

⁷ Pascher A., Kleine Beiträge zur Kenntnis unserer Süßwasser-algen, I, »Lotos«, 1904, p. 165. — Studien über die Schwärmer einiger Süßwasser-algen. Bibliotheca Botanica. Orig. Abh. Stuttgart 1907, p. 52.

⁸ Stahl E., Über die Ruhestände von *Vaucheria geminata*. Bot. Zeitung, 37. Jahrg., 1879, p. 132, 135, hier auch Literatur über den Gegenstand, p. 136.

⁹ Lotsy J. P., Vorträge über botanische Stammesgeschichte. I. Bd. Jena 1907. Verl. v. G. Fischer, p. 80.

¹⁰ Vgl. auch Lang A., Lehrbuch der vergleichenden Anatomie der Echinodermen und Enteropneusten. Jena. 1894. Verl. v. G. Fischer: Protozoen, p. 3. Hier vgl. auch die Literatur p. 21. So hat Hertwig bei *Heliozoon* Plasmodienbildungen gesehen.

Die experimentelle Erzeugung von Plasmodien.

Selbst wenn man sich mit der Erklärung der Plasmodien als Pseudoauxosporen völlig befreundet hat, so bleibt es trotzdem nicht recht verständlich, warum ganze Diatomeenmassen, ganze Kolonien plötzlich in Plasmamassen umgewandelt werden, die später freilich mitunter zerreißen. Man würde zunächst doch bloß an vereinzelte an die Grenze der Teilungsmöglichkeit gelangte Diatomeen zu denken geneigt sein, die kleine Plasmen, im besten Falle Konjugationsbildungen von zwei bis drei Individuen bilden würden.

Bei diesen Bedenken kam nun ein Versuch gerade zurecht, der über die Entstehungsweise der Plasmodien wesentliche Aufschlüsse bot und den Beweis erbrachte, daß es der Experimentator derzeit tatsächlich in der Hand hat, Plasmodienbildung künstlich hervorzurufen. Es handelt sich um den Versuch vom 15. und 17. Mai 1908, dessen genauere Beschreibung im II. Kapitel¹ nachgesehen werden mag. Die meisten Kolonien des KNO_3 -Teilversuches zeigten fast völlige, einige völlige Umwandlung in Plasmamassen. In der Tabelle I wurde durch die Buchstaben Pl. das Auftreten der Plasmodien, die in den Kolonnen mit 0·5% und 1% ClNa eine besonders mächtige Ausbildung erreichten, vermerkt. Auch im Milchversuche mit 2% und 3% ClNa traten Plasmodien reichlich auf, wodurch eine ältere Erfahrung über die Möglichkeit, Plasmodienbildung auf 2% ClNa M S A. mit Milchzusatz hervorzurufen, bestätigt wurde.

Daß es sich hier wirklich um eine künstliche Beeinflussung der Diatomee im Sinne der Plasmodienbildung handelte, bewies der I. Teilversuch mit Leuzinzusatz, bei dem nach der zehntägigen Versuchszeit am 27. Mai und, wie ich gleich hinzufügen will, auch nach 30 Tagen am 16. Juni 1908 nicht eine Spur einer Umwandlung der Diatomeen zu bemerken war.

In dem KNO_3 -Teilversuche kam der C als Agar, der N in Form des Nitrates in Anwendung bei gleichzeitiger Herabsetzung des Na-Gehaltes im Nährmedium. Daraus aber würde folgen, daß der Experimentator durch Modifikation dieser drei Faktoren in den Stand gesetzt ist, Plasmodien hervorzurufen, wogegen auch das Ergebnis des Milchversuches nicht sprechen würde.

Immerhin glaube ich, dürften die weiteren Erfahrungen noch eine allgemeinere Fassung zulassen. Darauf deutet das Ergebnis des p. 22 [676] beschriebenen Si-Versuches, dessen »Impfung mit Plasmodienmaterial« zum Vergleiche herangezogen werden soll. Wie Tabelle 1 lehrte, war es hier in den ersten zehn Tagen des Experimentes in den Si O_2 -»freien« Kölbchen zu gar keiner Entwicklung gekommen, während die Diatomeen in den Kölbchen mit $\text{K}_2 \text{Si}_2 \text{O}_5$ -Zusatz üppig gediehen.

In der zweiten Woche traten auch in den »kieselsäurefreien« Kölbchen vereinzelte Kolonien auf, so daß sich makroskopisch das Bild etwas verwischte. Untersuchte man diese Kolonien aber mikroskopisch, so fand man in der »kieselsäurehaltigen« Nährlösung nur die Var. *lata*, in der »kieselsäurefreien« fast nur Plasmodien. Danach wäre der Schluß berechtigt, daß auch Si O_2 -Mangel Plasmodienbildung veranlassen kann. Das klänge um so wahrscheinlicher, als zu den verwendeten Agar- und Gelatinenährböden Si nie absichtlich zugesetzt wurde und bei der rapiden Teilungsgeschwindigkeit² die Diatomee auf Triest. Meerw. PDA. trotz der im Substrate stets vorhandenen Kieselsäure doch an Si-Hunger erkranken und so zu den abnormen Bildungen hätte veranlaßt werden können.

Im Hinblick auf die Notwendigkeit des Si O_2 ³ für die braunen Süßwasserdiatomeen dürfte sich das Si O_2 auch für die *Nitzschia putrida* endgültig als notwendig herausstellen und das um so mehr, wenn man das Verhalten der Plasmodien zur Diatomeenmembran⁴ vergleicht. Da nun Na, N und C schon als notwendig erkannt sind, kann man wohl das Ergebnis der eben mitgeteilten Erfahrungen dahin verallgemeinern, daß man sagt: Der Mangel oder die ungünstige Darbietung eines oder mehrerer not-

¹ Siehe Kapitel II, p. 11 [667].

² Siehe Kapitel XIII, 1, p. 61 [717].

³ Richter Oswald, I, l. c., p. 6 [32].

⁴ Siehe Kapitel XVI, 6, p. 83 [739].

wendiger Nährstoffe ruft Plasmodienbildung bei der *Nitzschia putrida* hervor, weshalb die Plasmodienbildung nicht nur als eine »Alterserscheinung« anzusehen wäre. Damit aber wären die Plasmodien wie alle früheren Formen als Ernährungsvariation gedeutet, was um so zweckentsprechender erscheint, als gerade die typische Form des Na-Mangels, die Var. *gomphonemiformis*, die Vorläuferin der Plasmodien ist. Und schließt nun die neue Auffassung die erste Deutung aus? Klebs¹ insbesondere hat durch seine umfassenden Versuche den Beweis erbracht, daß Nahrungsmangel bei Algen und Pilzen die Kopulationstendenz erhöht. Hier wirkt Nahrungsmangel auf die Diatomeen ein. Wäre ihnen nun schon durch die lange Zucht die Tendenz der Kopulation eigen, so könnte diese durch den Entzug der Nährstoffe ganz plötzlich akut werden; der andersgeschlechtige Partner fehlt, es konnte also nicht zu echter Auxosporenbildung kommen und das Surrogat der Pseudoauxosporen² wäre das Ergebnis.

Wir sehen also, daß sich die beiden geäußerten Anschauungen nicht nur nicht ausschließen, sondern geradezu unterstützen, so daß es gar nicht unmöglich ist, daß beide Faktoren zugleich Nahrungsmangel und Kopulationstendenz, also äußere und innere Ursachen zusammenwirken können, um jenes klare Ergebnis zu liefern, dessen im vorstehenden gedacht wurde. Es könnte aber auch so sein, daß bei den alten Kulturen ohne Variation der Zusammensetzung des Nährbodens die inneren Ursachen allein, in den jüngeren Versuchen aber, wo die Plasmodien die Diatomeen förmlich aufzuzehren scheinen, die äußere Ursache allein wirken.

Überimpfungsversuche mit Plasmodienmaterial.

Der tägliche Verfolg des fotografierten Plasmodiums (Fig. 24, Taf. IV), das schließlich eines Tages zerplatzt erschien, machte nicht viel Hoffnung auf ein gutes Gelingen von Überimpfungsversuchen. Schon mit dem ersten Plasmodiummaterial wurden solche Experimente gemacht. Die Frage war doch zu lockend, nachzusehen, was denn aus diesen Plasmodien würde. Bei einer großen Anzahl derartiger Versuche tauchten plötzlich die schon an anderer Stelle³ beschriebenen Individuen der Var. *longa* auf, deren Auftreten als Parthenoauxosporenbildung oder als spontane Variation gedeutet wurde.⁴ Bei anderen Impfungen blieb es bei der Koloniebildung jener winzigen Diatomeen, die unvermeidlich mit den Plasmodien mit übertragen werden.

Es mag hier einer der letzten Versuche nach dieser Richtung beschrieben werden:

Ausgangsmaterial: Plasmodienmaterial von 2% ClNa MSA. + 0·5% P. + 0·5% D. vom 20. Mai 1908.

Substrat: Triest. Meerw. PD.; die Impfung erfolgte am 21. Mai 1908.

Am 27. Mai massenhafte Entwicklung der Var. *parva*, zwischen deren Individuen bereits reichliche Plasmodien zu sehen sind. In der Folge nahm die Plasmodienbildung zu.

Nun war die heikle Frage stets die: Waren diese Plasmodien Abkömmlinge der überimpften, oder vielmehr, was bedeutend wahrscheinlicher klingt, wieder Pseudoauxosporen der eben gebildeten winzigen Diatomeen?

Es ist klar, daß der Frage nach der Fortdauer und dem Verhalten von Plasmodien nur beizukommen sein wird, wenn man völlig reine Plasmodien in der Ein- oder Mehrzahl wird überimpfen können.

Diese Möglichkeit bot sich mir bisher nicht. Dafür hat das Überimpfen der Plasmodien auf ein 2% ClNa LA. mit K₂Si₂O₅-Zusatz das interessante Ergebnis gehabt, daß sich die Plasmodien mit einer derben Haut umgaben. Da die Details dieses Versuchs bereits erörtert und die Beziehungen

¹ Klebs, Die Bedingungen der Fortpflanzung usf., l. c.

² Siehe p. 100 [756].

³ Siehe p. 96 [752].

⁴ Siehe p. 100 [756].

der Versuchsergebnisse zur Plasmodienfrage eingehend behandelt sind, mag hier auf diese Ausführungen¹ kurz verwiesen sein.

Anhang.

Anhangsweise möchte ich an dieser Stelle nochmals auf Miquel's² Feststellung von der Verkleinerung der Schalendicke in ihrem möglichen Zusammenhange mit der Plasmodienbildung zu sprechen kommen.

Miquel fand, wie erwähnt, daß sich die Dicke des Gürtelbandes nach einer arithmetischen Progression um ein Stück verkleinert, das er mit $\frac{a-a_1}{n}$ bezeichnet (vgl. über die Bedeutung der Buchstaben p. 66 [722]).

Wenn nun auch diese Größe bei unserer Diatomee unmeßbar klein ist, so muß sie doch allmählich zur Vernichtung des Gürtelbandes führen und das desto rascher, je dünner es ist, so daß es naheliegt, den Moment des Eintretens der Plasmodienbildung zu identifizieren mit dem des Aufbrauches der Gürtelbänder, wodurch er auch gewissermaßen mathematisch bestimmt werden könnte, falls das x bei der farblosen *Nitzschia* je ermittelt würde.

Dadurch, daß die Gürtelbänder gelöst würden, wären die Diatomeen notgedrungen auf ein Ausschlüpfen aus ihren Hüllen angewiesen und der Anstoß zu einer ganz neuen Form der Lebensweise, eben der der Vergesellschaftung in Plasmodien, wäre gegeben.

¹ Siehe Kapitel XVI, 6, p. 83 [739].

² Miquel P., Octobre-Novembre 1892, l. c., p. 3; siehe Kapitel XIII, p. 63, 66 und 68 [719, 722 und 724].

XX. Über die Abhängigkeit der Kolonieforn von der Form der Individuen.

Wir haben eben gesehen, daß die *Nitzschia putrida* wie kaum ein anderer Organismus variiert. Es soll nun noch auf eine Erscheinung eingegangen werden, die bei der Tragweite der aus ihr sich ergebenden Folgerungen auch für den Bakteriologen¹ nicht ohne Interesse sein dürfte.

Die Abhängigkeit der Kolonieforn von der Form der Individuen.

Ein Blick auf die Photographien Fig. 20 und Fig. 23, Taf. IV, belehrt in diesem Falle besser als viele Worte. Fig. 23 ist ein Bild einer Kolonie von Var. *longa*, Fig. 20 eines der Var. *naviculaeformis* von Agar-ausgußplatten, beide direkt ohne Färbung bei 30facher Vergrößerung aufgenommen.

Die erste Photographie könnte man, wäre nicht ausdrücklich erklärt worden, es handle sich um eine Aufnahme einer *Nitzschia putrida*-Kolonie, für eine photographische Wiedergabe einer Kolonie der *Nitzschia Palea* (Kütz.) W. S. m. halten, so ähnlich sehen die Kolonien der farblosen Diatomee auf Agar denen der braunen Süßwasser-*Nitzschia*.²

Ebenso wäre man geneigt, unter Heranziehung der Fig. 5b und 2 der zitierten Arbeit die zweite Photographie für die photographische Wiedergabe einer Kolonie der *Navicula minuscula* Grun. zu erklären.

Damit ist aber auch gleich der springende Punkt aufgedeckt: Wir brauchen nur die früher³ angeführten Variationsformen der *Nitzschia putrida* in zwei, beziehungsweise drei Typen zu sondern:

1. den *Nitzschia*-Typus, umfassend die Var. *gigas* und *longa*,
2. den *Navicula*-Typus, umfassend die Var. *parva*, *lata*, *cornuta* und *siliginea*,
3. den *Gomphonema*-Typus, umfassend die Var. *gomphonemiformis*,

um die Abhängigkeit der Kolonieforn von der Gestalt der Individuen sofort zu begreifen.

Zu den genannten Typen kann dann noch als vierter und letzter der Plasmodientypus treten, der anschließend an die genannten eine eigene Behandlung finden wird.

1. Der *Nitzschia*-Typus. (Vgl. Fig. 1, Taf. I, in Epruvette 3% ClNa; Fig. 8, Taf. III; Fig. 15, 21 und 23, Taf. IV.)

Im Zustande der Var. *gigas* und Var. *longa* befindet sich die *Nitzschia putrida* auf dem Höhepunkte ihrer Bewegungs- und Leistungsfähigkeit. Eben geteilte Individuen werden nicht lange beisammen bleiben, sondern sich rasch aneinander vorbeischieben, wobei ihnen ihre große Beweglichkeit und die ihnen innewohnende Bewegungsenergie gewiß außerordentlich zustatten kommen mag. Weder die Gelatine noch das derbere Agar scheinen den leicht beweglichen Nitzschien unüberwindbare Hindernisse zu sein. Tief eingeschnittene Furchen, denen vergleichbar, die man bei der Zucht der *Nitzschia Palea* auf Agar bemerkt,⁴ geben von ihrer Wanderlust Zeugnis.⁵ Lag ein Individuum, das durch Teilung der Ausgangspunkt einer Kolonie werden sollte, im Agar, so muß der den durch die Teilung entstandenen Individuen innewohnende Wandertrieb und das durch ihn bedingte Aneinandervorbeischieben bei ganz jungen, aus wenigen Exemplaren bestehenden Kolonien die Strich-, bei älteren die Strahlenform bedingen, wie sie uns die Fig. 23, Taf. IV tatsächlich zeigt. Haben die Nitzschien bei ihrem Streben zur Oberfläche diese endlich erreicht, so ist kein Widerstand mehr vorhanden, der sie zwänge, die durch die Lage des ersten Individuums und durch den Nachschub der neuen Teilungsindividuen infolge Lockerung des Nährsubstrates gegebene

¹ Vgl. hierzu die Erfahrungen der Bakteriologen, die p. 92 [748] angeführt sind und die in Kruse W., I., 1. c., p. 482 ergänzt werden mögen.

² Richter Oswald, II, 1. c., Taf. XXVII, Fig. 5a, 1 und 7.

³ Siehe p. 91 [747].

⁴ Richter Oswald, II, 1. c., p. 502.

⁵ Siehe Kapitel Xb, p. 43 [699], und XIV, p. 76 [732].

bei den Zwickelformen ganz deutlich eine völlig einseitige Ausbildung bemerken, und zwar sind die Zwickel gegen die Hellermünze nicht, stark dagegen auf die andere Seite ausgebildet. Die einfachste Erklärung ist wohl die folgende: Gewiß hatten die durch Teilung entstehenden Diatomeen die Tendenz, die Kolonie hierhin und dorthin völlig gleichmäßig zu entwickeln, nun starben aber alle Individuen, die sich über den Rand der Giftzone der Münze hinauszuschieben wagten, ab, konnten sich also nicht mehr weiter teilen; ein derartig hemmender Faktor findet sich auf der Gegenseite nicht, hier konnte somit die üppigste Ausbildung der Kolonie erfolgen und das Ergebnis mußte eine einseitige Entwicklung der Kolonie sein.

Einfluß des ClNa-Gehaltes auf die Kolonief orm des *Nitzschia*-Typus.

Die neueren Experimente über den Einfluß des Kochsalzgehaltes im Nährmedium auf die Ernährung der *Nitzschia putrida*¹ haben den Beweis erbracht, daß auch die Gestalt des Individuums von dem Mangel an Na beeinflusst wird, so daß auf 0·5% und 1% ClNa ganz plötzlich der III. Typus, die Var. *gomphonemiformis*, dominierend auftritt oder sind die Plasmodien vorwiegend zu sehen; da aber, wie oben angedeutet und nun noch eingehend zu erörtern ist, diese Typen ihre besonderen Gestalten haben, die Gestalten der Individuen aber die Kolonief orm beeinflussen, muß es auf ClNa-armen Boden zu veränderten Kolonief ormen kommen, was sich auch besonders schön in der Fig. 1, Taf. I, und Fig. 2, Taf. II, ausprägt. Wir haben es also bei dem Einfluß von Kochsalz auf die Kolonief orm des *Nitzschia*-Typus der farblosen Diatomee mit einer indirekten Beeinflussung zu tun.

2. Der *Navicula*-Typus. (Vgl. Fig. 13, Taf. III; Fig. 20, Taf. IV.)

Die Individuen dieses II. Typus haben gegenüber dem ersten bedeutend an Beweglichkeit eingebüßt. Schieben sie sich aneinander vorbei, so geschieht es nur noch auf geringe Strecken, wovon auch die bei den Oberflächenkolonien noch immer vorkommenden Bewegungsbahnen, die lange nicht mehr so weit ins Agar vorstoßen, beredtes Zeugnis geben. Weil sie sich nun nicht mehr so weit voneinander entfernen, kommt es zu einer Häufung der Individuen in der Kolonie, die das Zentrum, insbesondere wenn es submers ist, im Mikroskop fast schwarz erscheinen läßt. Gewiß spielt dabei die Dichte des Agars im Inneren der Ausgußplatte wieder eine entscheidende Rolle. Sowie nämlich die Kolonie die Oberfläche erreicht hat, beginnt eine kreisförmige Ausbreitung, die Kolonief ormen bedingt, welche den Oberflächenkolonien des *Nitzschia*-Typus sehr ähnlich, aber doch selbst makroskopisch leicht zu erkennen sind, weil sie in gleichalten Kulturen nie den Durchmesser der *Nitzschia*-Typuskolonien erreichen. Schreitet die Degeneration der Diatomeen noch weiter fort, so hört die Bewegung der Diatomeen ganz auf, Tochterindividuum bleibt beim Mutterindividuum liegen, es entstehen geldrollenartige Reihen, wie sie die *Navicula minuscula* auf Gelatine gezeigt hat.² Selbstverständlich sind diese Reihen nur an der Peripherie der Kolonie völlig deutlich, da sie sich im Innern vielfach gefaltet übereinanderschoben und so ein wirres unauflösbares Durcheinander erzeugen (Var. *naviculaeformis*). In diesem dichten Haufen mag es denn auch vorkommen, daß die eine einer anderen Diatomee in die Flanke stößt, dadurch die gedrückte Flanke im Wachstum hemmt, während deren nicht gedrückte Flanke weiterwächst. Die neuentstandene Diatomee fixiert dieses Charaktermerkmal durch einige Generationen, es entsteht die Var. *siliginea*, die in ihrer Kolonief orm nicht wesentlich von dem *Navicula*-Typus abweicht. War es nur zu hornartigen Vorwachsungen gekommen und nicht zur Ausbildung von Kipfformen, so bleibt auch der gleiche Teilungsmodus und das gleiche Verhalten in der Kolonie erhalten, so daß auch bezüglich der Var. *cornuta* nichts Wesentliches hinzugefügt werden kann.

3. Der *Gomphonema*-Typus. (Vgl. Fig. 1, Taf. I, und Fig. 27, Taf. IV.)

Die Kolonien des III. sind von denen des II. Typus makroskopisch nicht zu unterscheiden, mikroskopisch erscheinen sie mehr radiär gebaut. Die Var. *gomphonemiformis* ist nämlich ausgezeichnet durch die ausgesprochenste Ähnlichkeit mit einem Dreiecke. Sie entsteht bei Na-Mangel auf sogenanntem MSA.,

¹ Siehe Kapitel II, p. 13 [669].

² Richter Oswald, II, I. c., Fig. 6b.

also bei ungenügender C- und nicht besonders geeigneter N-Nahrung. Es ist selbstverständlich, daß bei der stets erfolgenden Neueinschaltung radiärer Teilungswände die Oberflächenkolonien kreis-, die submersen kugelförmig werden müssen. Geradezu ausgezeichnet geeignet war für die Demonstration der Abhängigkeit des *Gomphonema*-Typus vom ClNa-Gehalte der Versuch vom 17. Mai 1908,¹ bei dem die Var. *gomphonemiformis* auf dem KNO₃-MSA. auftrat. Sie kam von 0·3% ClNa an bei allen Prozentsätzen des Cl Na vor, allein herrschend wurde sie aber erst von 0·5% ClNa abwärts. Benutzte man entsprechende Neutralrotlösungen gleicher Kochsalzkonzentration, so bekam man von den Diatomeen dieser Gestalt auch vorzügliche Präparate mit ausgesprochener Vitalfärbung. Der Versuch vom 17. Mai steht auch, wie die Tab. I zeigt, in sehr gutem Einklang mit dem dritten und vierten Versuche aus dem Jahre 1906, wo auch in einer ganzen Anzahl von Teilversuchen auf 1% ClNa der *Gomphonema*- einschließlich des *Navicula*-Typus erzielt wurde. Dieser Befund stellte außer Zweifel, daß die Bildung der abnormen Gestalten echte Ernährungsvariationen² sind und daß es der Experimentator heute in der Hand hat, sich wenigstens diese Form rasch und sozusagen spielend zu verschaffen.

Es ist nun gar nicht uninteressant, sich über die Menge Na klar zu werden, die nur mehr die Ausbildung des *Gomphonema*-Typus gestattet. Es reichen 0·0097 g Na nicht mehr zur Entwicklung der normalen Diatomeen und den Formen des II. Typus, dagegen stellen sie ein Optimum für den III. Typus dar.

Hält man die Var. *gomphonemiformis* längere Zeit bei der gleichen niedrigen ClNa-, beziehungsweise Na-Konzentration, so werden die Membranen zwischen den benachbarten Diatomeen gelöst, wodurch es zu Kolonien von Kugel- und Halbkugelform kommen muß; es entsteht:

4. Der Plasmodien-Typus.

Dabei ist es eine allgemeine Regel, daß er nur bei den Oberflächenkolonien zutage tritt, daß er durch die besonders bei geeigneter Beleuchtung scharf hervortretenden Plasmakonturen mikroskopisch von allen genannten Typen unterschieden ist und daß ihm die den Plasmodien auf- und anlagernden Schalenreste ein so ausgesprochenes Gepräge geben, daß eine Verwechslung mit Kolonien der drei ersten Typen völlig ausgeschlossen erscheint (vgl. Fig. 24, Taf. IV). Es kann dabei, wie gerade Fig. 24 zeigt, zur Verschmelzung zweier, ja auch mehrerer derartiger Kolonienplasmodien kommen.

Diese Ausführungen dürften als Beleg dafür genügen, daß tatsächlich Kolonieform und Gestalt des Individuums in einem ursächlichen Zusammenhange stehen, und zwar entweder mittelbar (I. Typus) oder unmittelbar (II.—IV. Typus). Mittelbar deshalb, weil die an die betreffende Gestalt geknüpfte Eigenschaft der Individuen (Energie, Beweglichkeit etc.) bei der Kolonie vorwiegend maßgebend sind; unmittelbar, weil die betreffende Gestalt des Individuums eine andere als die beobachtete Kolonieform überhaupt nicht zulassen würde (vor allem der III. und IV. Typus).

Warum, fragt man sich nun unwillkürlich, ist diese Beziehung zwischen den genannten Faktoren bisher so wenig beachtet geblieben?

Der Hauptgrund ist wohl der, daß es an dem geeigneten Versuchsobjekte mangelte, das mit der genügenden Teilungsgeschwindigkeit die genügende Variationsfähigkeit bei gleichzeitig vorhandener ausreichender Größe verband. Alle diese Eigenschaften besitzt aber die *N. putrida*, deshalb eignete sie sich auch so sehr zu derartigen Experimenten, und man wird in Anbetracht der Ausführungen von Kruse³ gut tun, um sich vor Irrtümern zu bewahren, auch bei den Bakterien stets auf die Abhängigkeit der Kolonieform von der Bakteriengestalt genau zu achten und auf Grund der Erfahrungen an der *N. putrida* nur jene Beschreibungen von Kolonien als maßgebend anzusehen, die auf Beobachtungen an völlig gesunden und frisch gezüchteten Individuen fußen.

¹ Siehe Kapitel II, p. 11 [667], Tab. I, VII. Versuch.

² Siehe Kapitel XIX, p. 95 [751].

³ Kruse W., I, I. c., p. 482.

Es sei hier noch mitgeteilt, daß sich bei der *N. Palea* eine ähnliche Abhängigkeit der Kolonieform von der immer mehr naviculaähnlich werdenden Diatomeengestalt hat nachweisen lassen.

Nach diesen allgemeinen Bemerkungen kann zur Beschreibung der Diatomeenkulturen übergegangen werden.

5. Beschreibung der Kulturen der *Nitzschia putrida* Benecke (Var. *gigas* und Var. *longa*.)

Nach Beobachtungen an der II. Reinzucht. Impfung vom 22. November 1906.

Zusammensetzung des Nährsubstrates: Triest. Meerwasser.-P D Gel. beziehungsweise A.

1. Gelatineplatte:

Nach 3 Tagen. Kolonien makroskopisch nicht oder eben noch bei 50facher Vergrößerung deutlich zu sehen. Die Diatomeen ziehen Gänge.

- » 6 » Die Kolonien sind makroskopisch sehr deutlich sichtbar und heben sich als weiße Punkte vom dunklen Untergrunde ab. Die submersen Kolonien zeigen Zwickelgestalt oder strahligen Bau,¹ die Oberflächenkolonien sind strahlig.
- » 9 » Die Kolonien messen bis 1 cm im Durchmesser, sie sind in der Mitte eingesenkt und verflüssigt.

2. Gelatinestrich:

Nach 4 Tagen. Deutlicher, hauchartiger Belag. Die Diatomeen haben die Tendenz, sich strahlenförmig in das Innere der Gelatine hineinzubohren, so daß durch die stellenweise hängen gebliebenen Impfdiatomeen sphäritartige Gebilde, die aus Tausenden von Diatomeen bestehen, erzeugt werden.

- » 7 » beginnt die Verflüssigung der Gelatine.
- » 9 » fließt die Gelatine bereits teilweise herab und nimmt dabei die Diatomeen mit. Die Verflüssigung schreitet in der Folge weiter vor, bis die gesamte Gelatine verflüssigt ist. Bei alten Kulturen ist die gebildete Diatomeenmasse auf den Eprovettenboden zusammengesintert und die überstehende Gelatine dünnflüssig wie Bouillon.

3. Gelatinestich:

Nach 4 Tagen. Auf dem Nagel: Deutlicher hauchartiger Belag.

Im Stichkanal: Vereinzelt strahlig ausgebildete Kolonien.

- » 7 » Auf dem Nagel: Hat eine derartige Vermehrung Platz gegriffen, ebenso unmittelbar darunter, daß die Verflüssigung beginnt. Oft erfolgt die Entwicklung am besten in einer gewissen Entfernung vom Nagel, was auf die Anpassung der Diatomee an eine bestimmte O-Spannung deutet. (Vgl. p. 35 [691] und Fig. 2, Taf. II.)

Im Stichkanal: Sind die Diatomeen jeder Kolonie zusammengesintert und bilden napfartige Häufchen, die dem Stich ein ungemein charakteristisches Aussehen verleihen.

In der Folge wird die Gelatine weiter verflüssigt und die Diatomeen sintern immer mehr zusammen, bis jene Stichkulturen entstehen, wie sie in Fig. 6, Taf. II, dargestellt sind. Die Sinterbildung hat typische Trichter-gestalt (nach 16 Tagen).

4. Agarplatte (Agar 1·8 Prozent):

Nach 4 Tagen. Die Kolonien beginnen sichtbar zu werden. Das Mikroskop zeigt deutlich zweierlei Kolonien: submerse und Oberflächenkolonien. Die submersen bestehen meist aus einer oder zwei miteinander gekreuzt verlaufenden Diatomeenreihen (Zwickelbildungen) oder aus strahligen Anhäufungen von Diatomeen, die fast lichtundurchlässig werden können. Die Oberflächenkolonien zeigen eine Lage von Zellen und kreisförmige Ausdehnung. Die Diatomeen haben Furchen in das Agar gezogen, die meist halbkreisförmig verlaufen, manchmal auch ziemlich radiär vorstoßen.

- » 9 » Submerse Kolonien stark entwickelt (siehe Fig. 23, Taf. IV). Die Oberflächenkolonien haben den Durchmesser von 2·5 cm erreicht. Häufig bemerkt man in ihnen konzentrische Ringe (vgl. Fig. 8, Taf. II).
- » 16 » war der Durchmesser der Oberflächenkolonien 4·3 cm bis 4·6 cm! In der Folge senken sich die Kolonien infolge Agarlösung ins Agar.

¹ Wie die *N. Palea* in Fig. 6 a der zitierten Arbeit Oswald Richter's, II.

5. Agarstrich:

Nach 4 Tagen. Beginnende diffuse Entwicklung.

- › 7 › Partienweise mit einer dünnen Diatomeenhaut überzogen.
- › 9 › Völlig mit der Diatomeenhaut überzogen.

6. Agarstich:

Nach 4 Tagen. Beginnende diffuse Entwicklung auf dem Nagel.

- › 7 › Nagel: Ganz oder partienweise mit einer dichten Diatomeenhaut überzogen.
Stich: Die Diatomeen wuchern nach allen Seiten in die Agarmasse vom Stiche weg.
- › 9 › Nagel: Völlig überzogen mit Diatomeen.
Stich: Das Bild von früher verstärkt.

In der Folge wird nicht viel an diesem Bilde geändert. Die Diatomeen können schließlich die ganze Agarmasse durchwuchern.

7. Kartoffel in Triest. Meerw. + $K_2Si_2O_5$:

Nach 7 Tagen. Schleimiger Belag auf den Strichen.

- › 14 › sind die ganzen Kartoffelscheiben mit dem Diatomeenschleim überzogen.

8. Flüssigkeitskulturen zeigen bei Var. *gigas* und *longa* nach 3 bis 4 Tagen einen hauchartigen Überzug auf dem Boden, der nach 10 Tagen den Boden des Kölbchens bedeckt und sich an den Wänden heraufzieht, in Flüssigkeitskulturen in Eprovetten wird die Eprovettenwand mit einer dicken Haut von Diatomeen überdeckt, die Diatomeen der anderen Typen bilden in beiden Fällen «hefenfleckartige»¹ Kolonien auf dem Boden, beziehungsweise an den Eprovettenwänden.

9. Verhalten der Kolonien auf Gelatine und auf Agar in Gestalt und Größe in makroskopischer Beziehung:

In Gelatine erscheinen die Diatomeen im Anfang etwas gefördert, insbesondere werden die Strahlen der submersen Kolonien in Gelatine reichlicher. In der Folge verhindert die rasche Verflüssigung der Gelatine den weiteren Vergleich.

10. Eigenbewegung:

Muß wegen der reichlich beobachteten Gänge eine recht erhebliche sein, doch ist sie durch die Reibung der Diatomeenschalen an dem festweichen Nährboden so verlangsamt, daß sie direkt nicht gesehen werden kann. In Triester Meerwasser suspendierte Individuen der Reinzuchten beweisen durch ihr rasches Gleiten die Richtigkeit dieser Annahme.

11. Größe der Diatomee:

In Gelatine. 46 μ lang, 4 bis 5 μ breit, Var. *gigas*.

- › Agar. Vgl. Tabelle 7 in Kapitel XIII, 3, p. 72 bis 75 [.—], Var. *longa*.

12. Chemische Leistungen:

1. Verflüssigt Gelatine.
2. Löst Agar.

Die gegebene Beschreibung gilt für die Zimmertemperatur von rund 20—23° C und die Herbst- und Wintermonate. Im späten Frühjahr und im Sommer, wo das Optimum der Temperatur, rund 25°², vorherrscht, geht die Entwicklung der Diatomee noch weit rapider vor sich.

Nun sollten eigentlich noch die Beschreibungen der Kulturbilder der anderen Varietäten der *N. putrida* folgen, doch glaube ich, mit dem Hinweis auf das bei der Typenbesprechung Gesagte und der Bemerkung, daß die Entwicklung bei den weiter vorgeschrittenen Degenerationsformen etwas länger auf sich warten läßt, daß die kompakte Wuchsform der Kolonie die strahlige der Var. *gigas* und *longa* nicht nur in der Platten-, sondern auch in der Strich- und Stichkultur ersetzt, daß dagegen in den chemischen Leistungen kein Unterschied zu verzeichnen ist, auf weitere langatmige Beschreibungen verzichten zu können. Diese Verzichtleistung scheint mir auch darin gerechtfertigt, daß die gewonnenen Varietäten, weil Ernährungsvariationen, im Grunde genommen ja doch pathologische Bildungen, oft nicht von langer Dauer sind und vermutlich nicht als erste Reinzuchtergebnisse gewonnen werden dürften. Für die sichere Diagnose der Grundform aber genügt die wiedergegebene Beschreibung gewiß.

¹ Hansen Chr., zitiert nach Lafar Fr., Spezielle Physiologie der Ernährung und der Vermehrung und Methodik der Reinzüchtung der Hefen. Handb. d. tech. Mykologie, II. Aufl., Jena, 1905, Verl. v. G. Fischer, IV. Bd., 1. Heft, p. 108.

² Siehe Kapitel XI, 1, p. 45 [701].

Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse der vorliegenden Arbeit.

1. Mit Hilfe des Prinzipes der Herabsetzung des Nährwertes des Nährsubstrates und der dadurch bedingten Herabminderung der Konkurrenz zufällig aufkommender Bakterien wurde eine insbesondere durch ihren Farbstoffmangel ausgezeichnete Meeresdiatomee absolut rein kultiviert, so daß damit die Möglichkeit der Beantwortung insbesondere ernährungsphysiologischer Fragen gewonnen war. Bei der Reinzucht erwies sich vor allem der Umstand als vorteilhaft, daß sich die Diatomeen der Rohzucht mittels Schleimklümpchen auf dem Objektträger festsetzen, wodurch man in den Stand gesetzt wird, sie mittels Meerwasser von Verunreinigungen zu befreien; die rein gezüchtete Diatomee wurde als *Nitzschia putrida* Benecke bestimmt.

2. Eingehende Versuche über die Bedeutung des Chlornatriums für diesen Meeresorganismus haben ergeben, daß die farblose *Nitzschia* das Na des Kochsalzes als unersetzbares Nährelement benötigt. Es gelingt daher unschwer, die *N. putrida* auf ClNa-freiem 2% NaNO₃-haltigem Agar zu ziehen.

Bei Experimenten über die Grenzkonzentrationen von Kochsalz, bei denen die Diatomee noch gedeiht, wurden 0·3% ClNa als untere, 6% ClNa als obere Grenze festgestellt. 0·2% und 7% ClNa gestatten normalerweise keine Entwicklung mehr. Doch gelang es bei Zusatz von 2% ClK, Cl₂ Mg und MgSO₄ zu einem Agar, das 0·2% ClNa enthielt, auch auf diesem sonst unbrauchbarem Kochsalzgehalte die Diatomee zur Entwicklung zu bringen.

3. Die *Nitzschia putrida* erwies sich in Übereinstimmung mit Untersuchungen von Benecke und Karsten als typisch saprophytisch, sie assimiliert Leuzin, Asparagin, Pepton und Albumine und bei Gegenwart passender Kohlenstoffquellen auch den anorganisch gebundenen N der Nitrate und Ammoniumverbindungen. Als ganz besonders vorteilhaft erwies sich das Leuzin, an zweiter Stelle Pepton. N-freie Kohlenstoffquellen werden bei Gegenwart anorganisch oder organisch gebundenen Stickstoffes assimiliert; dabei ergibt Inulinnahrung ein Optimum der Entwicklung. Die Tatsache, daß Leuzin und Inulin ebenso vorteilhaft für sie sind wie für die vor kurzem rein gezüchteten Süßwasserdiatomeen, verdient jedenfalls hervorgehoben zu werden.

4. Es ist höchstwahrscheinlich gemacht worden, daß auch die *N. putrida* wie ihre braunen Schwestern des süßen Wassers Kieselsäure für ihre Entwicklung braucht.

5. In Übereinstimmung mit den Erfahrungen an den braunen Süßwasserdiatomeen und denen von Molisch an Grün- und Blaualgen wurde eine schwach alkalische Reaktion des Nährsubstrates als zweckmäßig erkannt.

6. Der freie Sauerstoff wurde als notwendig für das Gedeihen der Diatomee befunden, dabei scheint sie an eine ganz bestimmte O-Spannung besonders angepaßt zu sein. Auch überdauert sie monatelang, ohne abzusterben, den Aufenthalt im O-freien Raume.

7. Mit Hilfe sauer reagierender Stoffe gelang es, negative Auxanogramme zu erzeugen. Im Anschlusse daran wurde analog wie bei den braunen Süßwasserdiatomeen die oligodynamische Wirkung von Kupfer- und Nickelmünzen zur Anschauung gebracht, wobei eine geringere Empfindlichkeit der farblosen *Nitzschia* gegenüber derartigen Giften konstatiert werden konnte, als sie die braunen Süßwasserformen zeigen.

8. Von Ausscheidungen konnten mit Sicherheit festgestellt werden ein gelatine- oder eiweiß- und ein agarlösendes Ferment.

9. Versuche über den Einfluß verschiedener Temperaturgrade auf Entwicklung und Wachstum der *N. putrida* ergaben, daß die Diatomee durch 24 und mehr Stunden eine niedere Temperatur bis — 10° und — 11° C ohne merkliche Schädigung auszuhalten vermag. Auf der anderen Seite ist dieser Organismus auch imstande, verhältnismäßig hohe Temperaturgrade (+ 30°) stunden-, ja wochenlang ohne Schwierigkeit zu ertragen. Das Optimum für ihre Entwicklung liegt bei rund 24 bis 25° C. Temperatursprünge von 40° C werden ohne Zeichen des Erkrankens überstanden. Die obere Grenze des Lebens

liegt um 38° C, doch vermochte bei gleichzeitiger Wirkung von Wärme und Licht die farblose *Nitzschia* auch auf ganz kurze Zeit sogar 38° C zu überdauern.

10. Mäßig starkes diffuses Tageslicht hat keinen merklichen Einfluß auf Entwicklung, Vermehrung und Wachstum der rein gezüchteten farblosen *Nitzschia*. Sie verhält sich also unter derartigen Bedingungen wie im Dunkeln. Als typischer Saprophyt benötigt sie, auf organischen Nährböden gezogen, natürlich das Licht nicht. Starkes Sonnenlicht wirkt aber schädlich auf sie ein, wobei in erster Linie die Wärmestrahlen, erst in zweiter die blauen Strahlen des Spektrums als gefährlich zu bezeichnen sind. Die Strahlen des gelben Spektralbezirkes scheinen wirkungslos zu sein.

11. Die Teilungsgeschwindigkeit der *N. putrida* ist eine sehr große, sie wurde mittels einer neuen Zählmethode mit 5 Stunden sichergestellt. Bei der Teilung folgt auch diese farblose Diatomee dem Gesetze von Pfitzer und Mac Donald, dem zur Erklärung der rapiden Verkleinerung der Diatomee bei der Methode der Reinkultur eine passende Ergänzung angefügt werden mußte.

Man findet die vorherrschende Länge der Diatomeen irgend einer Impfung nach dem Ausdrucke:

$$X = A - n \cdot m \cdot 2 \gamma,$$

wobei X die zu suchende Größe, A die ursprüngliche Länge, n die Zahl der Impfungen, γ die Dicke der Diatomeenschale bedeutet und m der Index der vorherrschenden Länge jener Kolonie war, von der abgeimpft worden ist.

Das zweite Gesetz, das sich aus den Längen- und Breitenmessungen der farblosen Diatomee in den verschiedenen Impfungen ergab, kann, wie folgt, ausgedrückt werden:

Indem proportional zur Verringerung der Längen- die Dickendimension zunimmt, bleibt das Volum der Tochterindividuen unverändert.

12. Ein höchst auffallendes Ergebnis der Reinzucht war auch der im Laufe der Generationen auftretende Verlust des normalen Bewegungsvermögens, der sich durch die an der Raphe und an der ganzen Schale auftretenden Veränderungen erklären mag.

13. Was die Histologie der *N. putrida* anlangt, so verdient der Nachweis von elaioplastenartigen Gebilden und die Beobachtung von kolossalen Fettmassen infolge ClNa-Mangels eine besondere Erwähnung. Die Membran wird im Verlaufe der Zucht durch die Wirkung des Plasmas allmählich aufgelöst und gibt so den Zellinhalt frei, in dem man durch Veraschen das im lebenden Zustande vermutlich als organische Kieselsäureverbindung vorhandene SiO_2 als solches nachweisen kann. Damit ist aber der Beweis erbracht, daß die Kieselsäuremembran der Diatomeen nichts Starres, nichts Unveränderliches ist, sondern, so apart es auch klingen mag, der Auflösung und Zerstörung durch die alles vermagende lebende Substanz der Zelle verfällt.

14. Auch Vitalfärbungsversuche sind mit der *N. putrida* ausgeführt worden, wobei die Farbstoffe Neutralrot und Anilinblau in entsprechend prozentigen ClNa-Lösungen oder in Triester Meerwasser ausgezeichnete Dienste leisteten. Ja, es kann geradezu behauptet werden, daß die *N. putrida* zu den besten Objekten für Schulungsversuche über die Vitalfärbung mit Neutralrot gehört. Die Farbstoffaufnahme aus kaum sichtbar gefärbten Tröpfchen erfolgt so rasch und so gründlich, daß bereits in wenigen Sekunden von vorzüglicher Vitalfärbung gesprochen werden kann.

15. Die Reinzucht hat nun noch eine höchst überraschende Eigenschaft der farblosen *Nitzschia* zutage gefördert: die außerordentliche Variationsfähigkeit dieser Art. Die im Laufe der Kultur aufgestellten Varietäten wurden ihren hervorragendsten Eigenschaften entsprechend als *gigas* (riesig), *longa* (lang), *nanella* (zwerbig), *naviculaeformis* (schiffchenartig), *cornuta* (gehörnt), *siliginea* (kipfelförmig) und *gomphonemiformis* (gomphonemaartig) genannt, die alle vermutlich durch reduzierte Auxosporenbildung oder durch sprungweise Variation in die lange Urform zurückverwandelt werden können. Dabei bleibt die Diatomee nicht stehen, sondern löst nun auch noch die Membranen, die hervortretenden Plasmen runden sich einzeln ab oder fließen zusammen und bilden echte, mit amöboider Bewegung und einem möglicher Weise durch Verschmelzung von Einzelkernen entstandenen relativen Riesenkerne versehene Plasma-

massen, Plasmodien, die im Hinblick auf ihr normales Auftreten zu einer Zeit, wo echte Auxosporenbildung erwartet werden könnte, als Pseudoauxosporen bezeichnet wurden.

Pseudoauxosporen sind also durch Zusammenfluß vermutlich gleichgeschlechtigen Plasmas — die Reinkulturen gingen wiederholt von einer einzigen Diatomee aus — entstandene Plasmamassen.

Es ist nun nicht uninteressant, daß man durch Mangel irgendeines Nährstoffes, sei es nun Na, N, C oder Si oder natürlich mehrerer solcher Stoffe oder durch Darbietung eines oder mehrerer derselben in schlecht assimilierbarer Form die Plasmodienbildung experimentell hervorrufen kann. Diese Plasmodien sind oft so groß, daß sie ganze Kolonien umfassen. Was aus solchen Plasmodien wird, ist bisher nicht mit Sicherheit bekannt; denn wenn aus dem sogenannten »Plasmodienmaterial«, id est Plasmodien mit anhängenden Diatomeen, plötzlich wieder die Urform entsteht, so kann dies ebenso auf die Plasmamassen wie auf die einzelnen intakten Diatomeen zurückzuführen sein. Bietet man aber den nackten Plasmen die fehlenden Stoffe, so können sie sich auch mit einer Membran umgeben.

16. Für den Bakteriologen und den technischen Mykologen dürfte endlich von Interesse sein, daß sich im Laufe der Zucht eine direkte Abhängigkeit der Kolonieforn der Diatomee von ihrer jeweiligen Gestalt hat nachweisen lassen. Danach kann man die Koloniefornen in vier Typen einteilen: den Nitzschia-, den Navicula-, den Gomphonema- und den Plasmodientypus, von denen für den ersten eine deutliche Abhängigkeit von der Agarkonzentration, von im Substrate vorhandenen Giften und vom Kochsalzgehalte nachgewiesen werden konnte.

Insbesondere bezüglich der zuletzt genannten Beeinflussung braucht nur darauf verwiesen zu werden, daß niederer Na-Gehalt aus der *Nitzschia* die Var. *gomphonemiformis*, beziehungsweise die Bildung von Plasmodien hervorrufft, und man wird begreifen, daß damit auch die Umwandlung des Habitusbildes der Kolonie gegeben sein muß.

Autorenregister.

Seite	Seite
A.	
Amelung E.	71 [727]
Apstein C.	54 [710]
Artari A.	12 [668], 16 [672], 94 [730]
B.	
Bary, A. de	36 [692]
Behrens H.	83 [739]
Beijerinck M. W.	7 [663], 20 [676], 43 [699], 59 [715], 81 [737], 94 [740]
Benecke W.	4 [660], 5 [661], 8 [664], 9 [665], 16 [672], 18 [674], 20 [676], 22 [678], 24 [680], 25 [681], 34 [690], 35 [691], 46 [702], 47 [703], 48 [704], 54 [710], 55 [711], 59 [715], 60 [716], 69 [725], 76 [732], 78 [734], 79 [735], 80 [736], 81 [737], 82 [738], 84 [740], 87 [743], 93 [749], 94 [750], 99 [755], 110 [766]
Berthold	4 [660]
Blakeslee A. F.	99 [755]
Boveri	71 [727]
Brauer Fr.	56 [712]
Braun A.	53 [709]
Buchner H.	33 [689], 34 [690]
Bunge G.	17 [673]
Burri R.	33 [689], 34 [690]
Bütschli	80 [736], 81 [737]
C.	
Castracane F. de	98 [754]
Celli A.	6 [662]
Chalon	86 [742], 89 [745]
Chambers R.	71 [727], 99 [755]
Cohn F.	4 [660], 86 [742]
Conklin	71 [727]
Conradi H.	26 [682]
D.	
Dammer O.	41 [697]
Delden van	7 [663], 20 [676], 43 [699]
Donald Mac J. D., siehe Mac Donald J. D.	
Drigalski, v.	26 [682]
Driesch H.	71 [727], 99 [755]
E.	
Eijkmann	39 [695], 43 [699]
F.	
Fischel A.	88 [744]
Flügge C.	59 [715], 92 [748], 93 [749]
Friedel	85 [741]
Friedländer	92 [748]
G.	
Gerassimoff J.	99 [755]
Gerneck R.	25 [681], 94 [750]
Gotschlich E.	59 [715]
Gran H. H.	20 [676], 97 [753]
H.	
Haberlandt G.	94 [750]
Hansen Chr.	109 [765]
Hastings	39 [695], 41 [697], 43 [699]
Haushofer K.	83 [739]
Hauptfleisch P.	78 [734]
Heim L.	28 [684]
Hensen V.	54 [740]
Hertwig R.	99 [755], 100 [756]

Seite	Seite	
Hesse W. 33 [689]	Mayer P. 4 [660]	
Hiekel R. 35 [691]	Mereschkowsky C. 80 [736]	
J.		
Josing Eug. 47 [703]	Merz A. 47 [703]	
Jost L. 10 [666]	Mez C. 55 [711]	
K.		
Karsten G. 4 [660], 5 [661], 8 [664], 18 [674], 20 [676], 22 [678], 54 [710], 59 [715], 60 [716], 61 [717], 69 [725], 80 [736], 82 [738], 87 [743], 94 [750], 96 [752], 97 [753], 98 [754], 100 [756], 110 [766]	Miehe H. 4 [660], 45 [701]	
Kaserer H. 20 [676], 43 [699]	Miquel P. 4 [660], 45 [701], 53 [709], 54 [710], 55 [711], 62 [718], 63 [719], 66 [722], 67 [723], 68 [724], 76 [732], 82 [738], 94 [750], 98 [754], 100 [756], 103 [759]	
Klebahn H. 96 [752]	Molisch H. 6 [662], 10 [666], 11 [667], 18 [674], 23 [677], 25 [681], 27 [683], 28 [684], 31 [687], 33 [689], 34 [690], 45 [701], 47 [703], 66 [722], 110 [766]	
Klebs G. 4 [660], 78 [734], 84 [740], 100 [756], 102 [758]	Müller M. 59 [715]	
Knischewsky Olga 105 [761]	Müller O. 54 [710], 67 [723], 76 [732], 78 [734], 81 [737], 97 [753], 99 [755]	
Kruse W. 92 [748], 93 [749], 104 [760], 107 [763]	N.	
Kürsteiner J. 33 [689]	Nestler A. 88 [744]	
Küster E. 8 [664], 88 [744], 94 [750], 99 [755]	Neumann R. 31 [687]	
L.		
Ladenburg 85 [741]	O.	
Lafar Fr. 8 [664], 28 [684], 52 [708], 109 [765]	Oltmanns Fr. 80 [736], 82 [738], 92 [748], 94 [750], 96 [752], 98 [754], 100 [756]	
Lang A. 100 [756]	Osterhout W. J. V. 17 [673]	
Lanzi 4 [660]	Ott E. 80 [736], 82 [738]	
Lauterborn R. 59 [715], 76 [732], 80 [736]	P.	
Lehmann K. B. 31 [687]	Palla 4 [660]	
Lidforss B. 19 [675], 42 [698]	Pascher A. 100 [756]	
Lindner P. 8 [664]	Pfeffer W. 9 [665], 10 [666], 11 [667], 45 [701], 88 [744]	
Lotsy J. P. 100 [756]	Pfützer E. 53 [709], 54 [710], 55 [711], 59 [715], 61 [717], 62 [718], 63 [719], 81 [737], 111 [767]	
Löwenstein A. 45 [701]	Provazek S. 4 [660], 9 [665], 18 [674], 69 [725], 76 [732], 79 [735], 80 [736], 88 [744], 93 [749]	
Lüders J. E. 59 [715], 81 [737]	R.	
Luther A. 100 [756]	Rabl 71 [727]	
M.		
Mac Donald J. D. 53 [709], 54 [710], 55 [711], 59 [715], 61 [717], 62 [718], 63 [719], 111 [767]	Richter A. 12 [668]	
Massart J. 88 [744]		
Matruchot L. 88 [744]		

Seite	Seite
Richter Oswald 4 [660], 6 [662], 8 [664], 10 [666], 12 [668], 16 [672], 18 [674], 19 [675], 20 [676], 22 [678], 25 [681], 27 [683], 31 [687], 35 [691], 36 [692], 38 [694], 39 [695], 43 [699], 48 [704], 52 [708], 59 [715], 60 [716], 64 [720], 76 [732], 84 [740], 85 [741], 86 [742], 96 [752], 101 [757], 104 [760], 105 [761], 106 [762], 108 [764]	T.
Rosenstiehl A. 88 [744]	Techet K. 12 [668]
Rung F. 41 [697]	Tischler G. 99 [755]
S.	Tomaschek P. 54 [710]
Schmitz Fr. 96 [752]	V.
Schütt F. 71 [727], 81 [737], 87 [743], 96 [752], 97 [753]	Vries H. d. 95 [751], 97 [753]
Senn G. 94 [750]	W.
Stahl E. 100 [756]	Wallich 53 [709]
Strasburger E. 71 [727], 83 [739], 99 [755]	Wehmer C. 36 [692]
	Wesenberg C. 97 [753]
	Wiesner J. 89 [745]
	Wilde 92 [748]
	Wisselingh, van, C. 86 [742]
	Winogradsky 34 [690]
	Wyplel M. 10 [666], 11 [667]
	Z.
	Zettnow 89 [745]

Textfigurenerklärung.

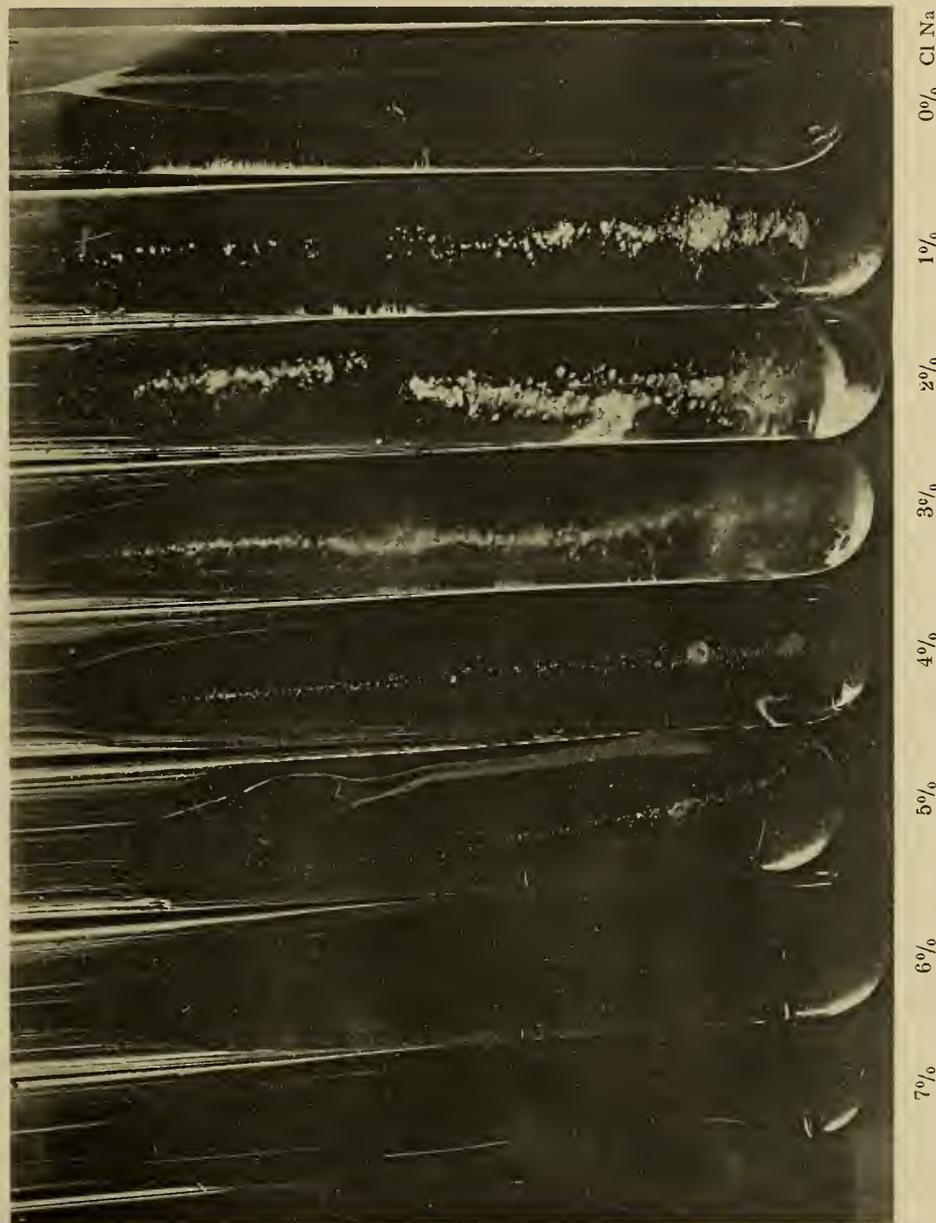
Fig. 1, 2 und 3. Einfluß verschiedenen Kochsalzgehaltes auf die *Nitzschia putrida* B e n e c k e im Gelatine-Versuch vom 14. März 1907 mit Var. *longa* (Text, p. 11 u. 12 [667 u. 668], Tab. I, VI. Vers.).

Tafel I.

Tafel I.

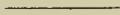
Fig. 1. Strichkulturen von rechts nach links 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 $\frac{0}{0}$ ClNa. Die Eprouvetten mit 8, 9 und 10 $\frac{0}{0}$ ClNa wurden nicht mit photographiert, weil sie nicht von denen mit 7 $\frac{0}{0}$ ClNa verschieden waren.

Das Optimum der Entwicklung liegt bei 2 und 3 $\frac{0}{0}$ ClNa. 6 $\frac{0}{0}$ zeigt eben noch, \emptyset und 7 $\frac{0}{0}$ keine Entwicklung. (Der lichte Streifen in der Eprouvette \emptyset $\frac{0}{0}$ ClNa ist ein Lichtreflex). Sehr beachtenswert ist der Unterschied in der Kolonieform bei 1 und 2 gegenüber 3 $\frac{0}{0}$ ClNa. Er erklärt sich in der Weise, daß bei niederem Kochsalzgehalte die sogenannte *Var. gomphonemiformis* der rein kultivierten Diatomee entsteht, die in kompakten Kolonien wächst (vgl. Text p. 13, 20 und 106 [669, 676 und 762]) und sich so von den diffus und gekämmt wachsenden ursprünglichen auf 3 $\frac{0}{0}$ ClNa erhalten gebliebenen *Var. longa-* Kolonien unterscheidet (Text p. 104 [760]).



Lichtdruck v. Max Jaffé, Wien.

Tafel II.



Tafel II.

Fig. 2 und 3 Die Stichkulturen desselben Versuches.

Fig. 2. Aufgenommen nach 8 Tagen.

» 3. » » » 34 »

Da die Eprouvetten bei der photographischen Aufnahme leider das zweitemal gerade in der umgekehrten Reihenfolge hingen als das erste Mal, steigen in Fig. 2 die Prozentsätze des ClNa von links nach rechts, in der Fig. 3 von rechts nach links. An der Umkehrung der Anordnung waren hauptsächlich die störenden Reflexe der Eprouvette mit 7⁰/₀ ClNa schuld, die sich in der Fig. 2 recht unangenehm geltend machen.

In Übereinstimmung mit dem Ergebnisse der Strichkulturen der Fig. 1 liegt auch bei diesen Stichkulturen das Optimum der Entwicklung bei 2 und 3⁰/₀ Kochsalz. Wieder ist der Einfluß des niederen ClNa-Gehaltes (Text p. 13, 106 [762]) auf die Kolonieforn unleugbar ausgeprägt.

Höchst auffallend ist die Wuchsform der Diatomee in den Eprouvetten mit 3, 4 und 5⁰/₀ ClNa der Fig. 2, in denen sich eine deutliche Beeinflussung der Diatomee durch die gebotene Sauerstoffspannung ausprägt (vgl. Text p. 35, 108 [764]).

Es dürfte nämlich aus diesen Bildern klar werden, daß die *N. putrida* B. an eine ganz bestimmte O-Spannung angepaßt zu sein scheint.

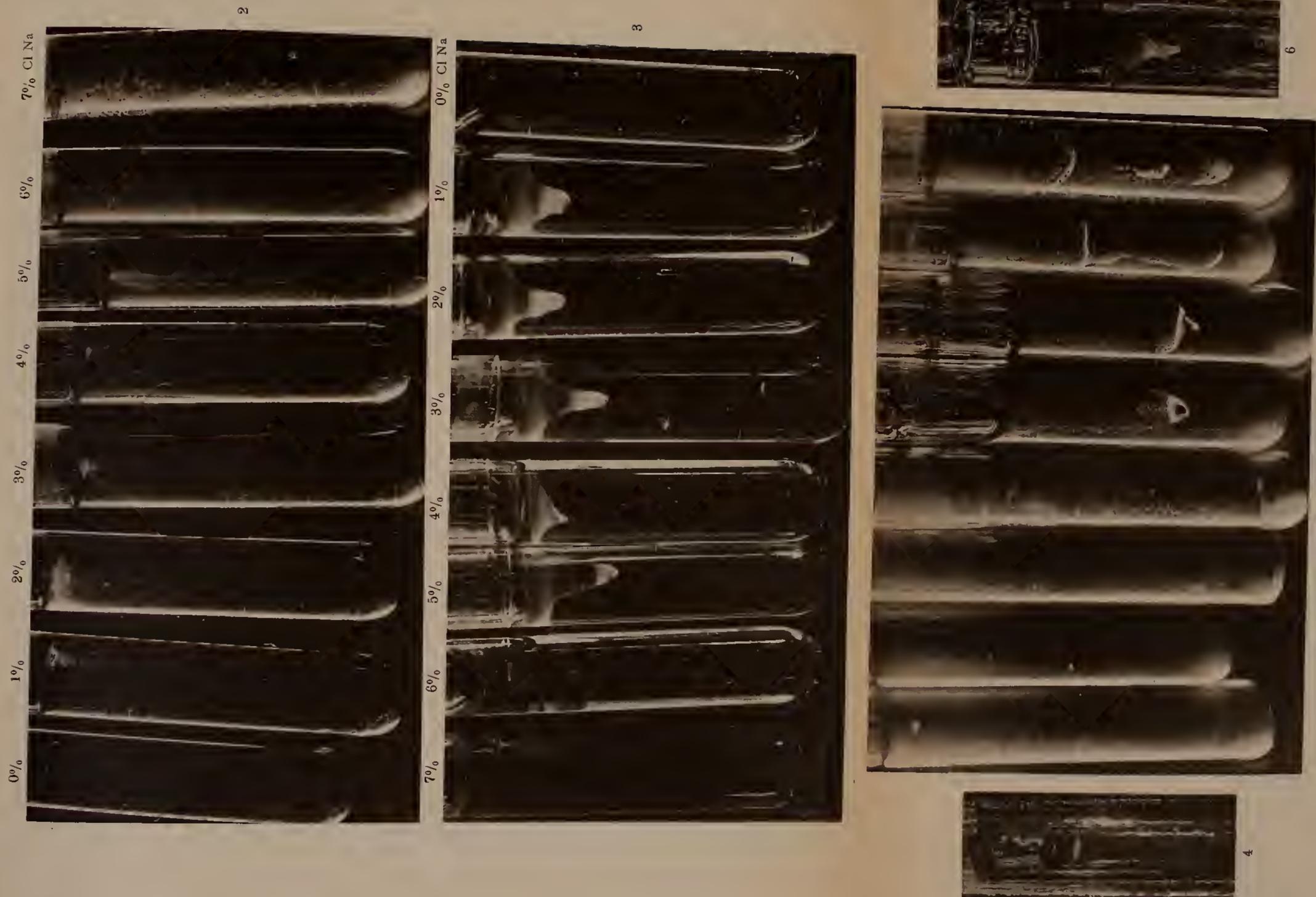
- » 3. Illustriert, abgesehen von ihrer Bedeutung für die Darstellung des Einflusses verschiedener ClNa-Konzentrationen, in vorzüglicher Weise die Verflüssigung der Gelatine: das Vorhandensein eines gelatinelösenden Fermentes (vgl. Text p. 39 [695]). Die weißen Massen sind die bei der Verflüssigung zusammengesinterten Diatomeen. (Die photographische Aufnahme erfolgte zur Vermeidung von Lichtreflexen in der Dunkelkammer bei etwas geöffnetem Fenster im durchfallenden Lichte vor der geschwärzten Zimmerwand.)
- » 4 und 6 sind Eprouvetten aus einem Versuche mit Gelatine, zu der verschiedene Chloridzusätze hinzugegeben worden waren. Der Versuch zeigt trotz des relativ unreinen Substrates, das doch die Gelatine unzweifelhaft ist, ganz deutlich die Notwendigkeit des Na für eine normale Entwicklung der Diatomee (vgl. Text p. 14 [670]).
- » 6. Stellt die Diatomee bei 2⁰/₀ ClNa-, Fig. 4 bei 2⁰/₀ Cl₂Mg-Zusatz dar: hier ist das Häufchen Diatomeen — man sehe von den Lichtreflexen der Eprouvette ab — kaum zu sehen, dort sind die Nitzschien in dichter Masse unter Verflüssigung (vgl. Text p. 39, 108 [695, 764]) der Gelatine in einen Trichterstiel zusammengesintert.

Fig. 5 ist die Photographie eines Experimentes über den Einfluß des O auf das Wachstum der farblosen Diatomee: links vom Beobachter sind 4 Eprouvetten aus der O-frei gemachten Atmosphäre, rechts die bei O-Zutritt (vgl. Text p. 35 [691]). Die Photographie zeigt sehr deutlich, daß der atmosphärische O für die Diatomee notwendig ist. Die geringe Menge Nitzschien in der ersten Eprouvette links dürfte auf ein Undichtwerden der Absorptionseprouvette zurückzuführen sein.

Auch hier ist die Verflüssigung der Gelatine zu sehen wie oben (Text p. 39 [695]).

Richter, O





Lichtdruck v. Max Jaffé, Wien.

111111

Tafel III.

—

—

Tafel III.

Fig. 7. Lichtversuch mit der Blechsablone (vgl. Text p. 51 [707]). Sonnenlicht tötet die Diatomeen.

- 8. Oberflächenkolonien der Var. *longa* nach 9 Tagen. (Etwas unter der natürlichen Größe; vgl. Text p. 104, 105 u. 108 [760, 761 u. 764]).

Besonders bei der Kolonie rechts oben sieht man das zonenweise Wachstum der Diatomee ausgezeichnet.

Fig. 9 und 10. Beispiele über Oligodynamie. Demonstriert mit einer Hellermünze, vgl. Text p. 38 [694].

- 9. Photographiert nach Vitalfärbung mit Neutralrot.

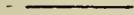
Man bemerkt ganz deutlich lichte Zonen um viele der wiedergegebenen tief schwarz erscheinenden Kolonien, Zonen, die so entstanden sind, daß das im Agar vorhandene Neutralrot osmotisch aus der Umgebung aufgesogen worden ist (vgl. Text p. 90 u. 105 [746 u. 761]).

- 10. Wurde aufgenommen ohne Färbung bei schräger Sonnenbeleuchtung mit kleinster Blende des Zeiss'schen Unars.
 - 11. Säuren sind Gifte für die farblosen Diatomeen, daher töten gewisse in die Kulturschalen eingeflogene Pilze, soweit ihre Giftzonen reichen, die Diatomeen. Gleichzeitig aber mögen in der Peripherie dieser Giftzonen Stoffwechselprodukte der Pilze entstehen, die das Wachstum der *N. putrida* B. fördern. Beides ist aus der Fig. 11 deutlich zu ersehen. Für die Betrachtung der Giftzone sei auf den Pilzrasen links unten, für die der Zone günstigeren Stoffwechselprodukte auf den kleinen Pilzrasen rechts oben verwiesen (vgl. Text p. 36 und 37 [692 u. 693]).
 - 12. »Plasmodien« unter Diatomeen der Var. *naviculaeformis*, vital gefärbt, bei 30facher Vergrößerung aufgenommen (vgl. Text p. 90 u. 97 [746 u. 753]).
 - 13. Oberflächenkolonien der Var. *naviculaeformis* etwas unter der natürlichen Größe, wie Fig. 10 aufgenommen (vgl. Text p. 106 [762]).
 - 14. Nachweis eines tryptischen Fermentes bei der *N. putrida* B. durch Auflösung des Milchaseins im Hastings'schen Milchagar (vgl. Text p. 43 [699]). Die dunkeln Zonen sind die durch die Auflösung des Kaseins durchsichtig gewordenen Partien der Milchagarplatte, die hellen Linien darin sind die Striche der weißen Diatomee. Der hellere Grund zeigt die noch unaufgelösten Milchaseinmassen im Agar. Das Bild ist vor schwarzem Hintergrund aufgenommen.
-



Lichtdruck v. Max Jallé. Wien.

Tafel IV.

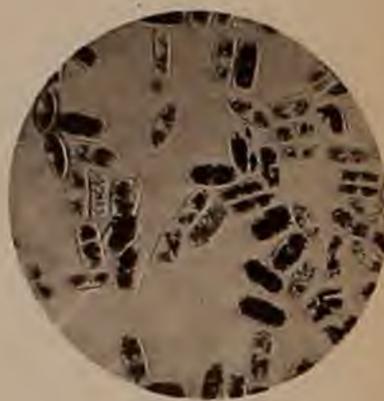




15



16



17



18



19



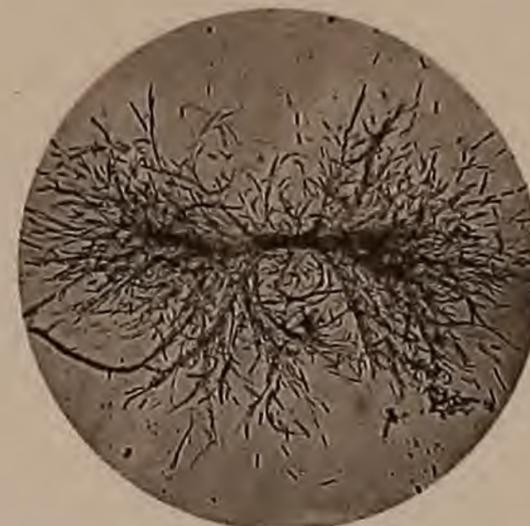
20



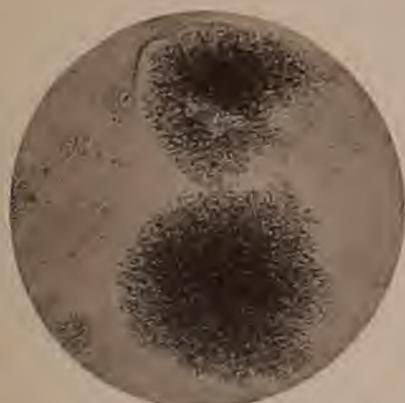
21



22



23



24



25



26



27



28

Lichtdruck v. Max Jafé, Wien.

Entwicklu

l. dazu Kapitel

Natrium bicarbonic.	Natriumox.
rk alkalisch	n. d. Kochen

dazu Kapitel

4.62%					6.88%				

dazu Kapitel

2%				2%			

l. dazu Kapitel

Versuche über die direkte Anpassung der *Nitzschia putrida* Benecke an verschiedene Kochsalzmengen im Nährboden.

Zeichenerklärung.

Unterblieb in einer Versuchskolonie die Aufstellung einer durch die Überschriften in den Tabellen bezeichneten Kölbchenkolonne, so wurde dies in der entsprechenden Kolonne durch einen schrägen Strich von links unten nach rechts oben angedeutet.

- die erste Kolonie.
- entsprechend der dichteren Punktierung und der zunehmenden Größe sowie der dunkleren Töne der verwendeten Zeichen zunehmende Diatomeenentwicklung.
- entsprechend dem tieferen Schraffentone zunehmende Diatomeenentwicklung.
- Maximum derselben.
- Rückgang der Kultur.

- * Platten-Strichkulturen
- ⊙ „ -Ausguss- „
- Eprovetten-Strichkulturen
- ∖ „ -Stichkulturen
- U „ -Schüttelkulturen
- △ Kölbchenkulturen

v. l. = v. long. = varietas longa. (vgl. Kapitel XIX.)
 v. n. = v. nav. = „ naviculaeformis („ „ „)
 v. s. = v. silig. = „ siliginea („ „ „)
 v. g. = v. gomph. = varietas gomphonemiformis („ „ „)
 F = Fetteinschluss (in Massen)
 Pl = Plasmodien (gl. Kapitel XIX.)
 v. l. > v. g. = mehr Individuen von v. l. als von v. g.
 Die Bezeichnungen der Nährböden vgl. im Kapitel VI.
 Die Bezeichnungen 7/IV. → 9/VII. u. s. f. vgl. im Kap. I.

- I. Versuch vom 10/IV. 1906 mit * auf 0.1% L.A.
- II. Versuch vom 25.-27./IV. 1906 mit 1) P-Gl-Gel.
 2) Cl₂Ca-L-Gel. (K₂ Si₂ O₅-Zusatz)
- III. Versuch vom 26. u. 27./IV. 1906 mit 0.1% L.A.
 1) Impfung der var. nav. von 1% ClNa-L.A.
 2) Impfung der var. longa von 1% ClNa-L.A.
- IV. Versuch vom 28/IV. 1906 mit 0.1% L.A. (Ca Cl₂ u. K₂ Si₂ O₅-Zusatz)
 1) Impfung der var. nav. von 1% ClNa-L.A.
 2) Impfung der var. longa von 1% ClNa-L.A.
 3) „ „ „ „ 3% „ „ „ „
 4) Der zu IV.₂) gehörige Eprovettenversuch.
- V. Versuch vom 3/III. 1907 mit v. long., v. nav. und v. silig. (lauter Strichkulturen) - Ca (NO₃)₂ - L.A.
- VI. Versuch vom 14./III. 1907 mit 0.1% L-Gel.; der Versuch mit v. long. wurde am 22./III. u. 17./IV. fotogr.
- VII. Versuch vom 15./V. u. 17./V. 1908.
 Stammagar: 1000 T. H₂ O
 0.2g Ca Cl₂
 0.05" Mg SO₄
 0.2" K₂ HPO₄
 Spur Fe SO₄
 vgl. Text Kapitel II.
 Impfmaterial: var. longa.

Tag der Beobachtung	0%	0.1%	0.2%	0.3%	0.4%	0.5%	1%	1.5%	2%	2.5%	3%	4%	5%	6%	7%	8%	9%	10% Cl Na.	
18./IV. 1906 10./V. 1906																			
1./V. 1906 9./V. 1906 19./VI. 1906																			
1./V. 1906 9./V. 1906 19./VI. 1906																			
3./V. 1906 erhält. Form																			
9./V. 1906 erhält. Form																			
9./V. 1906 erhält. Form																			
9./V. 1906 erhält. Form																			
9./V. 1906 erhält. Form																			
9./V. 1906 erhält. Form																			
9./V. 1906 erhält. Form																			
8./III. 1907 21./III. 1907 11./V. 1907																			
21./III. 1907 23./III. 1907																			
18./V. 1908 28./V. 1908 16./VI. 1908 ad 28./V. ad 16./VI.																			
18./V. 1908 28./V. 1908 17./VI. 1908 ad 28./V. ad 17./VI.																			
18./V. 1908 28./V. 1908 16./VI. 1908 ad 28./V. ad 16./VI.																			

Versuche über die Notwendigkeit des Natriums für die Entwicklung der Nitschia putrida Benecke.

1. Versuche insbesondere mit verschiedenen Chloriden. (vgl. dazu Kapitel II. p.13.)

I. Versuch
vom 15.VI. 1906
Stammösung:
1000 T. H₂O dest.
18 g gewäss. Agar
1 g Leuzin
0.2 g K₂HPO₄
0.05 g MgSO₄
0.2 g Ca(NO₃)₂
Spur K₂SiO₃
Spur FeSO₄

II. Versuch
vom 7-12.VII. 1906
Stamm. wie bei I.

III. Versuch
vom 2-8.VII. 1906
Stamm. wie bei I.

IV. Versuch
vom 2.VII. 1906
Stamm. 1000 T. Flusswasser 18 g Agar.

V. Versuch
vom 15.XII. 1906.
Stammösung:
1000 T. dest. H₂O
100 g Gelatine
sonst wie bei I.
am 11.II. 1907 wurde
deNaCl-n. MgCl₂-Stich.
No. 1 photographiert.
Fig. 4 u. 5. Taf. I.

VI. Versuch
vom 23.III. 1907
Stammösung:
1000 T. dest. H₂O
18 g gew. Agar
0.2 g K₂HPO₄
0.2 g Ca(NO₃)₂
0.05 g MgSO₄
Spur FeSO₄
lauter Strichkult.

VII. Versuch
vom 13-14.VI. 1908
1. Teilversuch
vom 13.VI. 1908
Stammösung:
1000 T. dest. H₂O
18 g gew. Agar
1 g Leuzin
0.2 g K₂HPO₄
0.05 g MgSO₄
0.05 g CaCl₂
Spur K₂SiO₃
Spur FeSO₄

2. Teilversuch
vom 14.VI. erhielt
nur Stamm. von I) noch
0.2% ClNa.
lauter Strichkult.

Tag der Beobachtung	Stammösung	Natriumchlorid	Kaliumchlorid	Magnesiumchlorid	Kalsiumchlorid	Kaliumnitrat	Magnesiumsulfat	Natriumnitrat	Natriumsulfat	Natriumazetat	Natriumammoniumphosphat	Natriumphosphat	Natriumkarbonat		Natriumbicarbonic.	Natriumoxalat	Natriumbioxalat	Natriumaluminat	Natriumsulfid	Natriumdisulfid	Natriumthiosulfat	Natrium salicylicum	Seignettesals	Leuzin	Inulin	Traubenzucker	Kontrollversuche		
													pur. Merck	kristallisiert													Ca	ClNa	
22.VI. 1906	1 2 III abc d A B	3%	3.84%	10.44%	5.67%	5.19%	12.6%		schwach alkalisch	stark alkalisch	stark alkalisch	stark alkalisch			stark alkalisch	n. d. Kochen sauer	stark sauer	stark sauer	stark alkalisch										
19.VII. 1906	1 2 III abc d A B	2%	2.56%	9.34%	3.78%	3.46%	5.2%																						
21.VIII. 1906	1 2 III abc d A B	2%	2.56%	9.34%	3.78%	3.46%	5.2%																						
20.VIII. 1906	1 2 III abc d A B	2%	2.56%	9.34%	3.78%	3.46%	5.2%																						
20.VIII. 1906	1 2 III abc d A B	2%	2.56%	9.34%	3.78%	3.46%	5.2%																						
10.VII. 1906	1 2 III abc d A B	2%	2.56%	9.34%	3.78%	3.46%	5.2%																						
20.VII. 1906	1 2 III abc d A B	2%	2.56%	9.34%	3.78%	3.46%	5.2%																						
6.XII. 1906	1 2 III abc d A B	2%	2.56%	9.34%	3.78%	3.46%	5.2%																						
8/II. 1907	1 2 III abc d A B	2%	2.56%	9.34%	3.78%	3.46%	5.2%																						
15/II. 1907	1 2 III abc d A B	2%	2.56%	9.34%	3.78%	3.46%	5.2%																						
2. Versuche mit verschiedenen Natriumsalzen. (vgl. dazu Kapitel II. p.15.)																													
10.VII. 1906	1 2 III abc d A B	2%	2.56%	9.34%	3.78%	3.46%	5.2%																						
20.VII. 1906	1 2 III abc d A B	2%	2.56%	9.34%	3.78%	3.46%	5.2%																						
3. Ein anscheinend widersprechender Versuch. (vgl. dazu Kapitel II. p.14.)																													
6.XII. 1906	1 2 III abc d A B	2%	2.56%	9.34%	3.78%	3.46%	5.2%																						
8/II. 1907	1 2 III abc d A B	2%	2.56%	9.34%	3.78%	3.46%	5.2%																						
15/II. 1907	1 2 III abc d A B	2%	2.56%	9.34%	3.78%	3.46%	5.2%																						
4. Die letzten Versuche aus den Jahren 1907-8. (vgl. dazu Kapitel II. p.14.)																													
8/III. 1907	1 2 III abc d A B	2%	2.56%	9.34%	3.78%	3.46%	5.2%																						
21/III. 1907	1 2 III abc d A B	2%	2.56%	9.34%	3.78%	3.46%	5.2%																						
11/V. 1907	1 2 III abc d A B	2%	2.56%	9.34%	3.78%	3.46%	5.2%																						
12.VI. 1908	1 2 III abc d A B	2%	2.56%	9.34%	3.78%	3.46%	5.2%																						
19.VI. 1908	1 2 III abc d A B	2%	2.56%	9.34%	3.78%	3.46%	5.2%																						
22.VI. 1908	1 2 III abc d A B	2%	2.56%	9.34%	3.78%	3.46%	5.2%																						
15.VII. 1908	1 2 III abc d A B	2%	2.56%	9.34%	3.78%	3.46%	5.2%																						
17.VI. 1908	1 2 III abc d A B	2%	2.56%	9.34%	3.78%	3.46%	5.2%																						
19.VI. 1908	1 2 III abc d A B	2%	2.56%	9.34%	3.78%	3.46%	5.2%																						
24.VI. 1908	1 2 III abc d A B	2%	2.56%	9.34%	3.78%	3.46%	5.2%																						
15.VII. 1908	1 2 III abc d A B	2%	2.56%	9.34%	3.78%	3.46%	5.2%																						