

Neue Versuche über die Wirkungen der Außenwelt auf die ungeschlechtliche Fortpflanzung der Algen.

Von Hans Freund (Halle a. d. Saale).

Die Fortpflanzung der Algen kann auf verschiedene Weise vor sich gehen. Wenn wir mit Klebs die rein vegetative Vermehrung, wie sie durch Teilung einzelliger oder Spaltung und Zerfall mehrzelliger Organismen erreicht wird, nicht als Fortpflanzung im engeren Sinne des Wortes, sondern als Wachstum auffassen, so haben wir bei den Algen verschiedene Möglichkeiten der Fortpflanzung vor uns. Eine relativ einfache Art der Vermehrung liegt dann vor, wenn sich der plasmatische Inhalt einer Zelle innerhalb der alten Mutterzellwand mit einer neuen Haut umgibt und wenn die so entstandene neue Zelle später unter günstigen Bedingungen wieder keimt und zu einer neuen Alge auswächst. Oder der Inhalt einer Zelle wandelt sich in einen oder mehrere nackte Plasmaballen um, die anfangs sich frei bewegen und später nach Umhätzung zu neuen Individuen heranwachsen. Beidemal haben wir es mit Formen der ungeschlechtlichen Fortpflanzung zu tun. Im ersten Fall nennen wir die unbeweglichen Fortpflanzungszellen Akineten oder Aplanosporen, im zweiten Fall sprechen wir von beweglichen Zoosporen. Daneben finden wir bei den Algen auch Arten der Vermehrung, die durch sexuelle Vorgänge eingeleitet werden. Es vereinigen sich hierbei die Plasmaanteile von zwei selbständigen Zellen zu einem einheitlichen Gebilde, das meist erst nach längerer Ruheperiode weiteres Wachstum erfährt und zu einem neuen Individuum sich heranbildet. Je nachdem die beiden Zellen, die miteinander verschmelzen, einander gleich oder ungleich sind, nennen wir die Produkte der geschlechtlichen Fortpflanzung Zygo- oder Oosporen. Sehr häufig ist der Fall, daß ein und derselben Algenspezies mehrere Modi der Fortpflanzung zur Verfügung stehen.

Die Fortpflanzung durch Zoosporen ist in jeder Beziehung vom Entwicklungsgeschichtlichen und morphologischen Standpunkte aus betrachtet einfacher als die geschlechtliche Vermehrung. Bei *Vaucheria* z. B. sehen wir, wie am Ende des schlauchförmigen Thallus durch eine Querwand eine zylindrische Zelle abgeteilt wird und der Inhalt sich in eine einzige große schwärmende Spore umwandelt, die ringsum mit vielen Zilien besetzt ist. Bei *Ulothrix* geht der Zoosporenbildung erst eine Vierteilung des Zellinhaltes voraus. Den Fall, daß in einer Zelle sehr

viele Zoosporen entstehen, haben wir bei *Botrydium granulatum*. Durch Platzen der alten Zellhaut werden die Zoosporen frei. Sie schwärmen aus und können nun alsbald keimen und zu neuen Individuen heranwachsen.

Die Fähigkeit Zoosporen zu bilden ist bei den Algen weit verbreitet. Eine besonders große Rolle spielt sie im Leben fast aller Chlorophyzeen, die zum großen Teil der Flora unserer süßen Gewässer angehören.

Unsere Kenntnisse von der Zoosporenbildung beschränkten sich lange Zeit, wie unser Wissen von der Fortpflanzung überhaupt, nur auf die Morphologie und Entwicklungsgeschichte. Die ersten sicheren Aufklärungen über die Physiologie der Zoosporenbildung verdanken wir Klebs, der seine Studien über die Physiologie der Fortpflanzung der Gewächse mit Untersuchungen von Süßwasseralgen begann. An *Hydrodictyon utriculatum* wies dieser Autor (1890) zuerst experimentell nach, daß die Fortpflanzung nicht als das Endresultat einer inneren Entwicklung aufzufassen ist, sondern daß die Entscheidung für ihren Eintritt vielmehr in der Außenwelt liegt. Später dehnte Klebs (1896) seine Untersuchungen auf eine größere Anzahl von Algen und auf einige Pilze aus, die seine Auffassungen des weiteren bestätigten.

Die Resultate¹⁾, die Klebs durch seine Experimente gewonnen hat, lehren, daß die Algen zur Zoosporenbildung schreiten, wenn sie

1) Seine Resultate über die Physiologie der Fortpflanzung niederer Pflanzen faßte Klebs 1904 im Biol. Zentralbl., Bd. XXIV, in seiner Arbeit über „Probleme der Entwicklung III“ unter allgemeinen Gesichtspunkten zusammen.

Eine Zusammenstellung der Ergebnisse, die sich speziell auf die Fortpflanzung der Algen beziehen, gab Oltmanns in „Morphologie und Biologie der Algen“, Bd. II, Jena 1905.

Neue Arbeiten, in denen Beobachtungen über die Bedingungen der Fortpflanzung bei Algen mitgeteilt werden, sind:

Livingston, B. E., On the nature of the stimulus which causes the change of form in polymorphic green algae. Botan. Gazette, Vol. XXX, 1900, pag. 289—317.

Livingston, B. E., Further notes on the physiology of polymorphism in green algae. Botan. Gazette, Vol. XXXII, 1901, pag. 292—302.

In beiden Arbeiten finden sich Angaben über die Zoosporenbildung von *Stigeoclonium (tenue?)*.

Ernst, A., Zur Morphologie und Physiologie der Fortpflanzungszellen der Gattung *Vaucheria* D. C. Beih. z. botan. Zentralbl., Bd. XVI, 1904. Beobachtungen über die Bedingungen der Sporenbildung von *Vaucheria piloboloides* Thur.

Franck, Theod., Kultur und chemische Reizerscheinungen der Chlamydomonas tingens. Botan. Ztg. 1904.

Pascher (Archiv f. Hydrobiologie und Planktonkunde, I, 1906, pag. 433—38) beobachtete bei *Stigeoclonium nudiusculum* (*Draparnaldia nudiuscula* Kuettz) die

durch Änderungen in ihren Lebensverhältnissen dazu veranlaßt werden. Bei *Vaucheria clavata* z. B., die in rasch fließenden Gewässern in Form von Watten oder kurzen Polstern wächst, wandeln sich die Enden der Fäden in Zoosporen um, wenn die Alge plötzlich in ruhig stehendes Wasser gebracht wird. Verdunkelung hat den gleichen Effekt bei dieser Alge. *Vaucheria clavata* ist nur ein Beispiel von vielen. Von *Botrydium granulatum*, um noch ein anderes zu nennen, ist bekannt, daß das in die Luft ragende Köpfchen der Alge in eine Unzahl Zoosporen zerfällt, wenn es mit Wasser benetzt wird.

Soweit die Erfahrungen, die bisher gesammelt wurden, schließen lassen, wird die Zoosporenbildung von Änderungen in den allgemeinen Lebensbedingungen, unter denen sich das Leben der Alge überhaupt abspielt, veranlaßt. Spezifische Mittel kommen dafür nicht in Betracht. Mit den direkten Wirkungen von Veränderungen in den äußeren Lebensverhältnissen ist der Einfluß der Außenwelt auf die Zoosporenbildung nicht erschöpft. Solche Änderungen sind nur die „speziellen äußeren Bedingungen“ oder Veranlassungen für den Eintritt des Prozesses, sie selbst sind aber wieder abhängig von den „allgemeinen Bedingungen“ der Außenwelt, unter denen sie realisiert werden. Spezielle äußere Bedingungen, welche die Zoosporenbildung veranlassen, wenn sie unter gewissen allgemeinen Bedingungen zur Anwendung kommen, können unwirksam sein, wenn die Kombination der allgemeinen Bedingungen eine andere ist. Wir wissen von *Vaucheria repens* (Klebs 1896, pag. 13 u. 14), daß sie Zoosporen bildet, wenn die in Wasser oder Nährlösung kultivierte Alge verdunkelt wird. Entzieht man dagegen der auf feuchtem Boden wachsenden *Vaucheria* das Licht, so wird sie keine Zoosporen bilden. Der äußere Reiz, den die Dunkelheit ausübt, kommt nur dann zur Wirkung, wenn die allgemeine Bedingung vorhanden ist, daß die Fäden der Alge von Flüssigkeit umgeben sind.

Bedenkt man schließlich, daß der innere Zustand der Algen bei der Zoosporenbildung eine der wesentlichsten Rollen naturgemäß spielen muß, daß dieser Zustand aber durch die allgemeinen Wachstumsbedingungen, unter denen die Alge vorher gelebt hat, bestimmt wird, so

Bildung von Makro- und Mikrosporen, als die Alge aus fließendem in stehendes Wasser übergeführt wurde.

Freund, H., Über die Gametenbildung bei *Bryopsis*. Beih. zum botan. Zentralbl., Bd. XXI, Abt. I, 1907, pag. 55—59.

Die einschlägige Literatur ist bei Klebs und Oltmanns ausführlich angegeben.

wird klar, daß indirekt die Zoosporenbildung auch durch die allgemeinen vorhergehenden Lebensbedingungen beeinflußt wird.

Die äußeren Mittel, durch die sich die Zoosporenbildung erzielen läßt, sind nicht bei allen Algen die gleichen. Sie variieren je nach der Art, ja sogar wie die Beispiele von *Vaucheria*, *Oedogonium* und *Hormidium* zeigen, je nach der Spezies. Bei einer ganzen Reihe von Algen sind uns die äußeren Bedingungen der Zoosporenbildung bereits bekannt. In dieser Hinsicht können wir wohl folgende Angaben als gesichert betrachten.

Relativ wenig kommen Änderungen in der Temperatur in Betracht. Verminderung der Temperatur bewirkt Zoosporenbildung bei *Bumilleria sicula*. Bei *Vaucheria repens* regt längerer Aufenthalt in niedriger Temperatur ebenfalls den Prozeß an. Dafür, daß in einer Temperaturerhöhung ein äußerer Reiz für die Zoosporenbildung besteht, ist nur *Oedogonium diplandrum* als Beispiel bekannt.

Als viel bedeutungsvoller haben sich Änderungen in der Lichtintensität erwiesen. Es ist keine seltene Erscheinung, daß eine Veränderung der Lichtintensität zur Zoosporenbildung den Anlaß gibt. So ließen sich bei *Vaucheria repens*, *V. clavata*, *Oedogonium capillare*, *Hormidium flaccidum* und *Confervia minor* durch einfache Verdunkelung ohne Wechsel des Mediums Zoosporen erzielen. Dem gegenüber steht der Fall, daß der Prozeß durch eine Steigerung der Lichtintensität hervorgerufen wurde, noch vereinzelt da. Nur bei *Hydrodictyon utriculatum* konnte Klebs Zoosporen beobachten, als alte Wasserkulturen, die verdunkelt gewesen waren, ans Licht gestellt wurden.

Mit großer Wahrscheinlichkeit, wenn auch weniger klar, ist der Einfluß des Sauerstoffgehaltes der Umgebung festgestellt. Die Meinung, daß eine bloße Zuführung von Sauerstoff Zoosporenbildung veranlassen könne, wie sie Walz (1868) äußerte, ist für *Vaucheria repens* und *clavata* von Klebs (1896, pag. 73) durch methodische Versuche endgültig widerlegt worden. Durch einfache Erhöhung des Sauerstoffgehaltes im umgebenden Medium werden, soweit unsere jetzigen Kenntnisse urteilen lassen, keine Algen zur Zoosporenbildung angeregt. Ist es andererseits auch nicht gelungen, durch einen einfachen Sauerstoffentzug dies zu erreichen — Klebs stellte Versuche mit *Vaucheria* und *Hydrodictyon* an — so läßt sich doch die Tatsache, daß viele Algen (*Vaucheria repens*, *V. clavata*, *Hydrodictyon*, *Oedogonium diplandrum*, *Stigeoclonium tenue*, *Draparnaldia*, *Ulothrix zonata*, *Hydrurus*) sich durch Überführung aus fließendem in stehendes Wasser zur Bildung der Zoosporen bringen lassen, am wahrscheinlichsten dahin deuten, daß die Ver-

minderung des Sauerstoffgehaltes der Umgebung in diesen Fällen der wirksame Faktor ist.

Es ist nicht ausgeschlossen, daß wir es auch dann mit der Wirkung einer Sauerstoffverminderung zu tun haben, wenn in feuchter Luft lebende Algen, wie *Botrydium* und *Vaucheria*, bei Benetzung mit Wasser Zoosporen bilden. Natürlich kommen in diesem Falle noch viele andere Umstände in Betracht, Wasseraufnahme der Zellen etc., deren reinliche Scheidung bisher nicht möglich war.

Für manche Algen werden die äußeren Bedingungen der Zoosporenbildung dadurch verwirklicht, daß bestimmte organische Stoffe dem Medium zugesetzt werden. Bei *Oedogonium capillare* ist vor allem Rohrzucker wirksam. Besonders auffallend ist die chemische Wirkung Zucker liefernder Substanzen, wie Inulin, Amygdalin, Aesculin, Salicin, Maltose, Raffinose etc., die bei gleichzeitiger Mitwirkung von Dunkelheit bei *Conferva minor* den Eintritt der Zoosporenbildung veranlassen.

Endlich sei die Bedeutung der anorganischen Nährsalze für die ungeschlechtliche Fortpflanzung der Algen hervorgehoben. Änderungen im Gehalt des Mediums an anorganischen Salzen gehören bei einer Reihe von Algen zu den sichersten Mitteln, um Zoosporen zu erzielen. So bilden *Vaucheria repens*, *Hydrodictyon*, *Hormidium flaccidum* und *Bumilleria* leicht Zoosporen, wenn ihnen nach längerer Kultur in Knopscher Nährlösung die anorganischen Salze entzogen werden. Weniger häufig wurde beobachtet, daß eine Steigerung des Nährsalzgehaltes zum gleichen Ziele führt. Hier ist eigentlich nur *Vaucheria clavata* zu nennen. Unter Umständen gehört auch *Oedogonium capillare* hierher, wenn es sich nämlich um die Zoosporenbildung von Fäden handelt, deren Zellen reich an Reservestoffen sind.

Meine eigenen Untersuchungen beschäftigen sich mit einigen Fragen, die durch die Erfahrungen von dem Einfluß eines Wechsels im Gehalt der Umgebung von Nährsalzen für die Fortpflanzung durch Zoosporen aufgerollt worden sind. In den ersten Experimenten, die Klebs zum Studium der Bedeutung der anorganischen Nährsalze für die Zoosporenbildung anstellte, war die Veränderung des Salzgehaltes begleitet von einem Wechsel im osmotischen Druck des Außenmediums. Wurden die Nährsalze den Algen dadurch entzogen, daß die Pflanzen aus anorganischen Nährlösungen in Wasser oder in Lösungen geringerer Konzentration übergeführt wurden, so trat gleichzeitig mit der Nahrungsverminderung eine Erniedrigung des Außendruckes ein und andererseits wurde mit dem Gehalt an Nährsalzen auch der osmotische Druck des Mediums gesteigert, wenn die Algen aus Wasser in Nährlösung über-

tragen wurden. Infolgedessen konnte aus diesen Versuchen noch nicht in eindeutiger Weise hervorgehen, ob die anorganischen Salze als chemische Stoffe, die für die Ernährung der Algen wichtig sind, von Bedeutung für die Zoosporenbildung sind, oder ob die physikalischen Eigenschaften der Salze bei der Fortpflanzung der Algen die ausschlaggebende Rolle spielen. Es war die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, daß bei den Experimenten die äußere Veranlassung für den Eintritt der Zoosporenbildung in dem Wechsel des osmotischen Druckes der umgebenden Flüssigkeit lag oder daß unbedingt das Zusammenwirken beider Faktoren, die bei dieser Versuchsanstellung realisiert wurden: der Veränderung des osmotischen Außendruckes und der Veränderung des anorganischen Nahrungsgehaltes, erforderlich war, um die Algen zur Zoosporenbildung anzuregen.

In der Tat ließ sich bei *Vaucheria repens* (Klebs 1896, pag. 61) zeigen, daß auch dann Zoosporenbildung, allerdings nur in sehr geringem Maße, eintrat, wenn die Alge aus Salzlösungen von jedenfalls nur unbedeutendem Nährwert, wie Kochsalzlösung, in Wasser übergeführt wurde. Auch die weitere Tatsache, daß *Vaucheria repens* beim Übergang aus 0,5 % iger in 0,2 % ige Knopsche Nährlösung Zoosporen bildet, führt Klebs (1904, pag. 458) als Stütze für die Vermutung an, daß eine einfache Verminderung des osmotischen Außendruckes genügen kann, um unter Umständen Zoosporenbildung zu veranlassen.

Sprechen demnach einige, wenn auch wenige und vielleicht nicht ganz eindeutige Tatsachen dafür, daß wenigstens *Vaucheria* auf eine Verminderung des osmotischen Außendruckes durch Zoosporenbildung reagieren kann, so geht aus zahlreichen anderen Versuchen zweifellos hervor, daß die Zoosporenbildung auch dann erfolgt, wenn die anorganischen Salze entzogen werden, ohne daß gleichzeitig der osmotische Druck vermindert wird. *Vaucheria* und *Hydrodictyon* können nach Klebs (1904, p. 458) Zoosporen entwickeln, wenn sie aus Nährlösung in eine Zuckerlösung von sogar höherem osmotischen Druck, als wie ihn die Nährlösung ausübte, übergeführt werden. In diesen Fällen wäre es denkbar, daß nicht die Entziehung der Nährsalze, sondern die Erhöhung des osmotischen Außendruckes der für den Eintritt der Zoosporenbildung ausschlaggebende Faktor gewesen war. Die bisherigen Erfahrungen stützen diese Vermutung allerdings nicht. Es ist nicht bekannt, daß nach der Übertragung aus gering konzentrierten Nährlösungen in Lösungen stärkerer Konzentration Algen Zoosporen zu bilden imstande sind, ohne daß andere Einflüsse im Spiele sind.

Zu erwähnen sind hier ferner die Ergebnisse von Franck (1904). Dieser Autor untersuchte die Bedingungen der Schwärmerbildung bei

Chlamydomonas tingens. Wenn die Alge aus 1%iger Knopscher Nährlösung in Lösungen der verschiedensten Salze und einer Reihe von organischen Stoffen übergeführt wurde, so schritt sie zur Bildung von Schwärzellen. Franck untersuchte, wie stark die einzelnen Salzlösungen konzentriert sein können, um noch Schwärmerbildung von *Chlamydomonas*-zellen, die in Nährösung vorher kultiviert waren, zu gestatten. Es stellte sich heraus, daß der Salpeterwert dieser Grenzkonzentrationen für gewisse Salzlösungen annähernd gleich oder sogar höher war als der Salpeterwert der Nährösung, in denen die Algen vor der Überführung in die Salzlösungen gewachsen waren. Mit Recht schließt Franck daraus, „daß eine Änderung der osmotischen Druckhältnisse wirkungslos ist und weder als begünstigender noch als hemmender Faktor angesehen werden kann, . . . , da bei all den drei möglichen Fällen, bei Erhöhung, Verminderung oder Gleichbleiben des osmotischen Druckes im Zellinnern, die Schwärmerbildungsprozesse ungestört erfolgten.“

Die Beobachtungen von Livingston (1900) bei *Stigeoclonium* bieten den früheren Erfahrungen von Klebs gegenüber hinsichtlich des uns hier interessierenden Problems nicht viel Neues. Wenn Livingston fand, daß Fäden und Palmellaformen dieser Alge nur in verdünnten Lösungen der verschiedenen Salze Zoosporen bilden, daß dieser Prozeß aber in höher konzentrierten Salzlösungen nicht eintritt, so läßt sich aus dieser Beobachtung noch kein Schluß über die Natur des äußeren Reizes ziehen, der die Zoosporenbildung in den schwachen Salzlösungen veranlaßt hat. Um über die Natur des äußeren Reizes entscheiden zu können, muß man die Faktoren kennen, in welchen bei der Übertragung in die betreffenden Lösungen eine Veränderung eintritt. Livingston hätte in den einzelnen Fällen, wo er Zoosporenbildung beobachtete, den osmotischen Druck angeben müssen, den die Lösung ausübt, in dem das Material vor den Versuchen gewachsen war. Da Livingston dies nicht getan hat, kann man seiner Behauptung: „The responses of *Stigeoclonium* (*tenue*?) . . . in reproductive activity, which accompany a change in concentration of the Knop's solution in which it is growing, are due to changes in the osmotic pressure of the medium, and are in no way functions of its chemical composition“ (1900, pag. 314) nicht ohne weiteres zustimmen. Die Angaben dieses Autors in betreff der Zoosporenbildung seitens der Fadenform dieser Alge scheinen mir sogar eher gegen eine rein physikalische Natur des Reizes, wie sie Livingston annimmt, zu sprechen, da Livingston angibt, daß nur in schwach konzentrierten Nährösungen die Alge in Form von Fäden wächst, und

daher anzunehmen ist, daß das Fadenmaterial, bei dem Zoosporenbildung in verdünnten Salzlösungen erfolgte, Kulturen in wenig konzentrierten Nährlösungen entnommen war.

Da eine Reihe der früheren Beobachtungen von Klebs und Franck dafür sprachen, daß eine einfache Entziehung der anorganischen Salze zur Zoosporenbildung Veranlassung geben kann, auch wenn der osmotische Außendruck nicht verändert wird, so schien eine weitere experimentelle Untersuchung dieser Frage nicht aussichtslos. Ich habe in dieser Hinsicht eine Reihe von Versuchen mit *Oedogonium pluviale* angestellt, in denen ich Änderungen im osmotischen Drucke ausschloß und die Wirkung einer Entziehung der anorganischen Salze bei konstant bleibendem osmotischen Außendruck beobachtete. Nachdem auf diese Weise festgestellt worden war, daß *Oedogonium pluviale* unter diesen Bedingungen imstande war, Zoosporen zu bilden, ergab sich als weitere Frage, ob es darauf ankomme, daß alle vorher zur Ernährung dienenden anorganischen Salze entzogen werden, oder ob schon die Entziehung einzelner Salze genüge, um die Reaktion seitens der Alge anzuregen und welche Salze in dieser Hinsicht von Bedeutung seien.

Auch der anderen Seite der Frage nach der Wirkung von Veränderungen im Gehalt der Umgebung an anorganischen Nährsalzen, nämlich der Bedeutung einer Zufuhr von anorganischen Nahrungsstoffen für die Zoosporenbildung bei Algen, die in Wasser gelebt haben, konnte ich näher treten. Für viele Algen (*Hydrodictyon* u. a.) kommt die Überführung in Knopsche Nährösung überhaupt nicht als äußerer Reiz für die Erregung der Zoosporenbildung in Betracht. Bei diesen Algen wirkt die Nährösung meist in dem Sinne, daß sie die Reizbarkeit der Algen auf äußere Veranlassungen zur Zoosporenbildung erhöht, daß sie den Eintritt des Prozesses selbst aber nicht gestattet. Nur zwei Algen sind, wie ich vorhin schon bemerkt habe, bekannt, bei welchen Zoosporenbildung als Reaktion auf die Überführung der Algen aus Wasser in Nährösung erfolgt: *Vaucheria clavata* und *Oedogonium capillare*. Daß in diesen Fällen die äußere Veranlassung für die Entwicklung der Schwärmer in einer einfachen Erhöhung des osmotischen Außendruckes zu suchen sei, ist nach den bisherigen Erfahrungen nicht wahrscheinlich, wenn auch eingehende Versuche in dieser Hinsicht bisher nicht ange stellt worden sind. Einmal ist die Wirkung der Nährsalzzufuhr bei beiden Algen nur im Licht, nicht aber im Dunkeln zu bemerken, außerdem kommt es speziell bei *Oedogonium* darauf an, daß die Fäden reich an Reservestoffen sind.

Vermutlich ist es auch hier in erster Linie wesentlich, daß den Algen bestimmte für die Ernährung wichtige Salze zugeführt werden, die in irgend einer Weise in den Stoffwechsel eingreifen. Als ein günstiges Objekt für eine nähere Analyse dieser Frage erwies sich *Haematococcus pluvialis*. Weniger präzise Resultate als mit dieser Alge erhielt ich mit *Oedogonium pluviale*.

Wurden auch die meisten meiner Versuche nach den eben dargelegten Gesichtspunkten angestellt, so war es selbstverständlich für die Deutung der Resultate nicht unwichtig, auch darüber orientiert zu werden, wie sich beide Algen anderen äußeren Bedingungen wie Licht, Dunkelheit, Temperatur, gegenüber verhielten. Die Ergebnisse, die ich in dieser Hinsicht erhielt, werden ebenfalls im Folgenden mitgeteilt. Von besonderem Interesse dürften dabei die Resultate sein, die die Versuche mit *Haematococcus* ergaben. Das besondere Verhalten des *Haematococcus* dem Licht gegenüber machte eine Anzahl eingehenderer Versuche erforderlich.

Versuche mit *Oedogonium pluviale*.

Die Alge fand ich im März 1906 fruktifizierend in einem Wasserreservoir im botanischen Garten zu Halle a. S. Sie hatte sich am Boden und am Rande des Behälters angesiedelt und wuchs von hier aus in langen Fäden in das Wasser. Das ganze Frühjahr über hielt sich die Alge im Bassin in gesundem Zustande, bis sie im Juli durch eine *Cladophora* und durch *Vaucheria sessilis* überwuchert wurde.

Bei der näheren Bestimmung der Alge nach der Monographie der Oedogoniaceen von Hirn war ich im Zweifel, ob ich es mit einem Vertreter der Kollektivspezies *Oedogonium pluviale* oder mit *Oedogonium fonticola* A. Br. zu tun hatte. Morphologisch war zwar mein Material von *Oedogonium diplandrum*, das von Klebs untersucht wurde und das nach Hirn mit *Oedogonium pluviale* synonym ist, nicht zu unterscheiden, wenn auch der Standort beider Algen ganz verschiedenartig ist. Die mir vorliegende Form hatte sich in ganz ruhig stehendem Wasser entwickelt, während Klebs das *Oedogonium diplandrum* bei Basel in einem lebhaft strömenden Bache fand. Andererseits waren aber auch bemerkenswerte Abweichungen der Eigenschaften meines Materials von den Charakteren, die für *Oedogonium fonticola* angegeben werden, nicht zu konstatieren. Als Standorte für *Oedogonium fonticola* sind einige Bassins in den botanischen Gärten von Bologna, Venedig und Berlin (Hirn, 1900, pag. 314) bekannt. Ich sandte zur genaueren Be-

stimmung die Alge an Herrn Prof. Dr. Hirn in Jyvaskylae, der die Freundlichkeit hatte, mir mitzuteilen, daß das mir zur Untersuchung dienende Material *Oedogonium pluviale* sei und daß auch nach dem von mir eingesandten Material zu urteilen, kaum mehr die Identität von *Oedogonium pluviale* und *Oedogonium fonticola* A. Br. bezweifelt werden könne.

Zur Orientierung über die Art und Weise, wie die Zoosporenbildung der Alge vor sich geht, verweise ich auf die Angabe von Oltmanns (Algen, I, 1904, pag. 216): „Die Schwärmer entstehen einzeln in der Mutterzelle, und zwar sind sie in derselben so orientiert, . . . daß das helle Vorderende mit den Geißeln der Zellwand anliegt. Ist die Zoospore fertig gestellt, so zieht sich das ganze Plasma ein wenig zusammen und bald erfolgt der Austritt, indem die Mutterzelle durch einen Ringriß aufspringt und auseinander klappt. Die Zoospore drängt sich heraus, zunächst noch von einer dünnen Hüllblase umgeben; später sprengt sie diese und eilt davon.“

Nach den Erfahrungen, die Klebs durch seine Versuche besonders mit *Protosiphon botryoides* und *Hydrodictyon utriculatum* gewonnen hat, sind die äußeren Bedingungen, durch welche die Zoosporenbildung veranlaßt wird, bei ein und derselben Alge nicht unter allen Umständen die gleichen, vielmehr sind sie in ihrer Wirksamkeit abhängig von den allgemeinen Wachstumsbedingungen, unter denen die Alge vorher gelebt hat. Je nach den früheren Lebensbedingungen und dem durch diese herbeigeführten physiologischen Zustand der Alge wird die Zoosporenbildung durch verschiedene äußere Reize ausgelöst. Erfolgreiche Versuche ließen sich mithin nur dann erwarten, wenn sie mit Material angestellt wurden, von dem soweit als möglich bekannt war, unter welchen allgemeinen Bedingungen es vorher sich entwickelt und gelebt hatte.

Um speziell die Bedeutung der Nährsalze für die Zoosporenbildung zu untersuchen, mußte ich wissen, welche Nährsalze und in welcher Menge sie den Algen zur Verfügung gestanden hatten. Zu diesem Zwecke kultivierte ich eine größere Menge *Oedogonien* in einer 0,5%igen Knopschen Nährlösung und außerdem in destilliertem Wasser.

Es ist nicht überflüssig, die Art und Weise anzugeben, auf welche ich diese Kulturen, aus denen ich später das Material zu meinen Versuchen entnahm, herrichtete. Die Algen wurden aus dem Brunnen genommen, gut mit Leitungswasser abgewaschen, bis möglichst alle Verunreinigungen entfernt waren, und vor der Überführung in die Kulturen tüchtig mit der Kulturflüssigkeit abgespült. Die Kulturen setzte ich in

großen zylindrischen Glasgefäßen an, die bis zu $\frac{2}{3}$ ihrer Höhe mit der Kulturflüssigkeit gefüllt waren. Um die Verdunstung möglichst einzuschränken, wurden die Gefäße mit Glasplatten zugedeckt.

Zum Standort für die Kulturen wählte ich einen Tisch unter einem nach Norden gelegenen Balkon, weil sie hier einerseits vor direktem Sonnenlicht geschützt waren, ihnen aber diffuses Tageslicht in hinreichendem Maße zur Verfügung stand. Entsprechende Kulturreihen wurden in schwächeres Licht gestellt und zwar auf den Arbeits-tisch an einem Nordfenster und in einen großen Glaskasten, der an der Nordfront in einer Ecke stand und von der Mauer von Süden und Westen her beschattet war. Diesen Kulturen entstammte das Material, das für die Versuche zur Verwendung kam.

Form der Versuchsanstellung.

Für die Versuche, die ich mit dem auf diese Weise präparierten Material anstellte, bediente ich mich kleiner Glasdosen von ca. 12 ccm Inhalt, die mit 10 ccm Lösung gefüllt wurden. Bei der Verteilung des Algenmaterials in diese Dosen wurde darauf geachtet, daß die Menge des Materials in den einzelnen Kulturreihen soweit als möglich die gleiche war. Selbstverständlich wurde die größte Sorgfalt darauf verwendet, daß nicht etwa andere als beabsichtigte Salze sich in den Dosen fanden. Jedesmal wurde vor dem Einbringen in die Kultur das Material sorgfältig mit der Flüssigkeit, wie sie bei dem Versuch zur Verwendung kam, abgespült.

Um einen Maßstab für die Intensität der Zoosporenbildung in meinen Versuchen zu haben, zählte ich die Zoosporen in einer großen Anzahl von Gesichtsfeldern. Das konnte mit Leichtigkeit ausgeführt werden, da die Zoosporen sich auf der Oberfläche der Kultur ansammelten. In meinen Daten ist, wo nichts besonderes bemerkt wurde, die kleinste und größte Zahl der in den Gesichtsfeldern gefundenen Zoosporen angegeben. Das Gesichtsfeld, auf das sich meine Angaben beziehen, erhielt ich durch Benutzung von Okular 3 und Objektiv 1 von Seibert (Vergrößerung : 86).

Einfluß der anorganischen Nährsalze.

1. Einfluß der Nährsalzentziehung.

Bestimmung des osmotischen Druckes der Nährösungen.

Um bei meinen Versuchen irgendwelche Änderungen des osmotischen Druckes ausschließen zu können, handelte es sich zunächst darum, den osmotischen Druck der Knopschen Nährösungen und ent-

sprechender Lösungen, die nur bestimmte Salze derselben enthielten, zu kennen. Weil eine Berechnung des osmotischen Druckes so kompliziert zusammengesetzter Lösungen, wie sie zur Verwendung kamen, zu umständlich war, so schien es vorteilhaft den osmotischen Druck wenigstens der am meisten verwendeten Lösungen empirisch zu ermitteln.

Livingston (1901, pag. 302) gibt am Schluß einer seiner Arbeiten eine Tabelle, in der der osmotische Druck der Knopschen Nährlösung und der Salzlösungen angegeben ist, die wie die Knoplösung bereitet sind, in denen jedoch je ein Komponentensalz der vollen Knopschen Lösung fehlt. Diese Angaben konnte ich für mich nicht übernehmen, da ich mich aus verschiedenen Gründen der Methode, deren sich Livingston zur Bereitung seiner Nährösung bediente, nicht anschließen konnte. Bei Verwendung von Dikaliumphosphat, das bekanntlich alkalisch reagiert, läßt sich der Niederschlag von phosphorsaurem Kalk kaum vermeiden. Deshalb benutzte ich kristallisiertes Trikaliumphosphat von Grübler. Dieses reagiert im Gegensatz zu dem gewöhnlichen amorphen Trikaliumphosphat sauer. Ferner wurde beim Abwägen der Salze niemals ihr Gehalt an Kristallwasser berücksichtigt, wodurch natürlich ein ziemlicher Unterschied in der Konzentration der von mir bereiteten Lösungen im Vergleich zu denen Livingstons bedingt war.

Zur Bestimmung des osmotischen Druckes bediente ich mich desselben Verfahrens wie Livingston (1901, pag. 300). Mit Hilfe eines Beckmannschen Apparates ermittelte ich die Gefrierpunktserniedrigungen der einzelnen Lösungen und berechnete daraus nach der von Nernst (1903, pag. 146) angegebenen Formel

$$P_f = 12,03 \Delta_f$$

(P_f = osmotischer Druck bei 0° , Δ_f = Gefrierpunktserniedrigung) den osmotischen Druck bei 0° . Aus der Formel

$$P_t = P_f (1 + 0,00367 t)$$

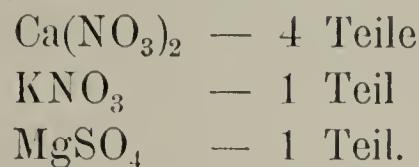
läßt sich der Druck, der bei der Temperatur t ausgeübt wird, berechnen.

Es ist nötig die genaue Zubereitung der Lösungen anzugeben. Ich ging von 2%igen Lösungen der einzelnen Salze aus und setzte daraus eine 2%ige Mischung zusammen. Hieraus stellte ich mir dann durch Verdünnung die gewünschten Konzentrationen her. Zur Sterilisation der Lösungen benutzte ich Maßkolben von 100 ccm Inhalt, die oberhalb vom Teilstreich noch eine kolbenartige Ausbuchtung hatten. Die Sterilisation erfolgte 10 Minuten lang in strömendem Dampf. Die geringen Mengen Wasser, die bei dieser Prozedur verdampften, wurden wieder ersetzt, nachdem die Lösungen auf $17,5^\circ$ — auf diese Tempe-

ratur waren die Maßflaschen geaicht — wieder abgekühlt waren. Auf diese Weise ermittelte ich den osmotischen Druck für verschiedene Konzentrationen der Knopschen Nährlösung, ferner für eine stickstofffreie und eine phosphorfreie Lösung. Die stickstofffreie Lösung enthielt folgende Komponenten:



Die phosphorfreie Lösung bestand aus:



Meine Resultate sind in der folgenden Tabelle zusammengefaßt. Der Kürze halber bezeichne ich die stickstofffreie Lösung mit A, die phosphorfreie mit B. Die Daten sind stets die Mittel aus mehreren Beobachtungen. Der Gefrierpunkt des destillierten Wassers, von dem die Gefrierpunkte der Lösungen subtrahiert wurden, war das Mittel aus zwei Beobachtungen vor und nach den Gefrierpunktsbestimmungen der einzelnen Salzlösungen.

Lösung	A_f	Pf Atmosph.	P 15° Atmosph.	P 25° Atmosph.
0,2 % K. N.	0,051	0,6135	0,6473	0,6698
0,2 % A.	0,053	0,6376	0,6727	0,6961
0,2 % B.	0,058	0,6977	0,7361	0,7617
0,5 % K. N.	0,131	1,5759	1,6627	1,7205
0,5 % A.	0,112	1,3474	1,4216	1,4710
0,5 % B.	0,131	1,5759	1,6627	1,7205
1 % K. N.	0,227	2,7308	2,8811	2,9814
1 % A.	0,202	2,4301	2,5639	2,6531
1 % B.	0,234	2,8150	2,9700	3,0733
2 % K.	0,442	5,3173	5,6100	5,8052

Der osmotische Druck steigt mit der Konzentration der Lösungen nicht im gleichen Verhältnis. Er ist in konzentrierteren Lösungen nicht in demselben Maße stärker als in schwächeren Lösungen, in dem die Konzentration erhöht ist. Bei den einzelnen Salzlösungen ist der Grad der relativen Druckabnahme bei steigender Konzentration verschieden. Während die stickstofffreie Lösung in 0,2 %iger Verdünnung noch fast den gleichen osmotischen Druck ausübt wie die 0,2 %ige Knop-Lösung, ist der Druck der 0,5 %igen stickstofffreien Lösung schon bedeutend geringer als der der 0,5 %igen Knopschen Lösung.

Bei *Oedogonium pluviale* läßt sich wie bei vielen anderen Algen (*Vaucheria repens*, *Hydrodictyon*, *Protococcus* u. a.) die Zoosporenbildung

leicht dadurch erreichen, daß die in Nährlösung kultivierte Alge in destilliertes Wasser übergeführt wird. Um zu sehen, ob für dieses Verhalten der Alge die gleichzeitig mit der Nahrungsentziehung eintretende Erniedrigung des osmotischen Außendruckes bestimmend war oder nicht, suchte ich zunächst dadurch den Algen die Nährsalze zu entziehen, ohne dabei den osmotischen Druck der umgebenden Flüssigkeit zu erniedrigen, indem ich sie in isotonische oder osmotisch sogar noch stärker wirkende Lösungen anderer Substanzen, die nicht in der Knopschen Nährlösung enthalten sind, übertrug. Zuerst wandte ich Zuckerlösungen an. Nach Pfeffer (1897, I) hat eine 1 %ige Rohrzuckerlösung bei 15° C einen osmotischen Druck von 0,69 Atmosphären. Demnach ist eine 2,5 %ige Rohrzuckerlösung etwa isotonisch mit einer 0,5 %igen Knop-Lösung. Einer 1 %igen Knopschen Nährlösung entspricht eine 4 %ige Rohrzuckerlösung. Ich führe einige typische Versuche an:

Ödgonien am 10. Mai 1906		Am 14. Mai 1906
ans 0,5 %iger K. N. in		
destilliertes Wasser	10—15	Keimlinge im Gesichtsfeld
2,5 %ige Rohrzuckerlösung	15—20	" " "
4 %ige "	20	" " "
Am 12. Mai 1906 ans 0,5 %iger K. N. -		Am 14. Mai 1906
Lösung in		
destilliertes Wasser	5—6	Sporen u. Keiml. im Gesichtsfeld
2,5 %ige Rohrzuckerlösung	einige Sporen	" "
5 %ige "	5—13	Sporen u. Keiml. " "
Am 23. Mai 1906. Oedogonium aus		Am 28. Mai 1906
1 %iger Knop-Lösung in		
destilliertes Wasser	bis zu 4	Keiml. im Gesichtsfeld
4 %ige Rohrzuckerlösung	2—3 Sporen	" "
5 %ige "	6 Keimlinge	" "

Die Versuche wurden in großer Zahl aus allen Nährlösungen mit demselben Erfolg wiederholt. Von 28 Versuchen trat in 26, also in 93 % Zoosporenbildung in isotonischer Zuckerlösung ein und zwar meist mit derselben, oft mit stärkerer Intensität als bei der Überführung aus Nährlösung in Wasser. Nur wenn die Kulturen im Dunkeln angestellt wurden, war die Zahl der Zoosporen in Zuckerlösungen geringer als in destilliertem Wasser. Aber darauf ist wohl kein Gewicht zu legen, da im Dunkeln alsbald enorm viel Bakterien die Zuckerkulturen zerstörten.

Kulturen, in denen ich statt Zuckerlösungen Chlornatrium anwandte, um den osmotischen Druck nicht zu verringern, führten zum gleichen Ergebnisse. Stets bildeten Ödgonien, die aus 0,5 %iger Knopscher Lösung in eine 0,27 %ige NaCl-Lösung (nach Pfeffer hat eine 1 %ige NaCl-Lösung einen osmotischen Druck von 6,09 Atmosphären)

übergeführt wurden, in gleicher Menge Zoosporen wie beim Übergang in destilliertes Wasser.

Nach diesen Ergebnissen zu urteilen ist *Oedogonium pluviale* nach Kultur in Knopscher Nährlösung also imstande, auch bei konstant bleibendem Außendruck Zoosporen zu bilden, wenn ihm die anorganischen Nährsalze plötzlich entzogen werden.

Noch günstigere Resultate als mit reiner Chlornatriumlösung erhielt ich zum Teil dann, wenn ich eine Mischung von Chlornatrium und Nährlösung benutzte. Ich fügte zu diesem Zweck zu 0,1%iger Knop-Lösung noch eine 0,22%ige Chlornatriumlösung, um einen osmotischen Druck von 1,66 Atmosphären zu erreichen. In dieser Mischung trat die Zoosporenbildung mit besonderer Lebhaftigkeit ein. Einige Beispiele mögen dies zeigen:

Ödgonien seit 29. Mai 1906 in 0,5%iger Nährlösung im Glaskasten an der Nordfront:

Am 20. Juni in den Kasten hell in	
Kulturflüssigkeit	nichts
destilliertes Wasser	3—5 Sporen im Gesichtsfeld
0,27% NaCl-Lösung	2—5 Keiml. „ „
0,1 KN + 0,22% NaCl-Lösung	10—20 „ „ „

Am 25. Juni 1906	
nichts	
3—5 Sporen im Gesichtsfeld	
2—5 Keiml. „ „	
10—20 „ „ „	

Ödgonien aus der gleichen Kultur unter gleichen Bedingungen

Am 23. Juni 1906 in	
Kulturflüssigkeit	nichts
destilliertes Wasser	manchmal 1—3 Keiml. im Gesichtsfeld
0,27% NaCl-Lösung	1—4 Sporen „ „
0,1% Knop-Lös. + 0,22% NaCl-Lös.	20—25 Keiml. „ „

Am 28. Juni 1906	
nichts	
manchmal 1—3 Keiml. im Gesichtsfeld	
1—4 Sporen „ „	
20—25 Keiml. „ „	

In dieser Mischung waren bei gleichem osmotischen Druck die Nährsalze, wenn auch nicht vollständig beseitigt, so doch bedeutend verringert. Die noch vorhandenen Nährsalze banden die schädlichen Wirkungen des Chlornatriums. Auch für andere Algen ist bekannt, daß schädlich wirkende Salze besser bei Gegenwart von etwas Nährlösung vertragen werden. So kann z. B. nach Klebs (1896, pag. 150) *Hydrodictyon* sogar 2 und 2,5%ige Salpeterlösungen aushalten, wenn etwas Nährlösung zugefügt wird.

Aus diesen letzten Versuchen sehen wir gleichzeitig, was Klebs (1904, pag. 458) schon für *Vaucheria repens* nachgewiesen hat, nämlich, daß nicht einmal eine absolute Entfernung der Nährsalze nötig ist, um die Zoosporenbildung zu erregen, daß vielmehr eine relative Verringerung bei gleichbleibendem osmotischen Drucke genügt. Besondere Versuche, in denen ich Ödgonien aus 0,5%iger Nährlösung in 0,4 bis 0,1%ige Knop-Lösungen überführte, lehren, daß eine Verminderung der Nährsalze von 0,5% auf 0,2% und besonders auf 0,1% für die

Auslösung des Prozesses hinreichend ist. An Vaucheria repens beobachtete Klebs ein ähnliches Verhalten. Diese Alge bildet Zoosporen, wenn sie aus 1%iger Knop-Lösung in 0,2%ige und 0,1%ige Nährlösung übertragen wird. Auf Grund meiner Versuche mit Oedogonium pluviale und im Hinblick auf die Tatsache, daß Vaucheria repens auch bei Nahrungsentzug durch Übertragung in hochprozentige Zuckerlösungen Zoosporen bilden kann, möchte ich annehmen, daß auch bei Vaucheria in diesem Falle der wirksame äußere Faktor die relative Verminderung der Nährsalze und nicht die des osmotischen Druckes (Klebs 1904, pag. 458) war.

Die vorhin angeführten Versuche beweisen nur indirekt die Bedeutung der Nährsalzentziehung als wichtiges Mittel, um Zoosporenbildung hervorzurufen. Es ließen sich immerhin noch spezifische, die Entwicklung der Zoosporen befördernde Wirkungen des Chlornatriums und des Rohrzuckers annehmen, wenn es auch nicht gerade große Wahrscheinlichkeit für sich hat, daß zwei chemisch so verschiedene Substanzen unter sonst gleichen Bedingungen dieselbe physiologische Reaktion hervorrufen können.

Um auch diesen Einwänden vorzubeugen, kam es darauf an, zur Erhaltung des osmotischen Druckes nicht fremde Substanzen zu verwenden, sondern die Nahrungsverminderung durch Übertragung in geeignete Kombinationen der Komponenten der Knopschen Nährlösung herbeizuführen, in denen einzelne wichtige Nahrungsstoffe fehlten.

Da die Nitrate und Phosphate die bedeutendste Rolle bei der Ernährung spielen, so untersuchte ich, wie weit eine Entfernung dieser Salze einzeln von Wirkung wäre. Ich gebe meine Versuche ausführlich an.

Ödgonien aus 0,5%iger Knop-Lösung, seit 15. Mai 1906 unter dem Balkon, werden unter den Balkon hell gestellt:

Am 11. Juni 1906 in	Am 15. Juni 1906
Kulturflüssigkeit	nichts
destilliertes Wasser	einzelne Keimlinge
0,6 A (N-frei)	1—2 Keiml. im Gesichtsfeld
0,5 B (P-frei)	nichts.

Ödgonien aus 0,5%iger Knop-Lösung, seit 29. Mai unter dem Balkon, werden am gleichen Standort hell gestellt:

Am 20. Juni in	Am 26. Juni 1906
Kulturflüssigkeit	nichts
destilliertes Wasser	einige Zoosporen
0,6 A (N-frei)	oft 1—3 Keiml. im Gesichtsfeld
0,5 B (P-frei)	1 vereinzelter Keimling

Ödgonien, seit 29. Mai in 0,5 % iger Knop-Lösung im Glaskasten hell. Am gleichen Standort hell:

Am 20. Juni 1906 in
Kulturflüssigkeit
destilliertes Wasser
0,6 A (N-frei)
0,5 B (P-frei)

Am 23. Juni 1906 in
Kulturflüssigkeit
destilliertes Wasser
0,6 A (N-frei)
0,5 B (P-frei)

Am 27. Juni 1906 in
Kulturflüssigkeit
destilliertes Wasser
0,6 A (N-frei)
0,5 B (P-frei)

Am 22. Juni 1906
nichts
3—4 Sporen im Gesichtsfeld
eine Anzahl Sporen
2—3 Keiml. im Gesichtsfeld

Am 28. Juni 1906
nichts
manchmal 1—3 Keiml. im Gesichtsfeld
einzelne Sporen
1—3 Sporen im Gesichtsfeld

Am 2. Juli
nichts
2—3—6 Sporen im Gesichtsfeld
vereinzelte Sporen
oft 2—4 Sporen

Auf den ersten Versuch möchte ich deshalb nicht viel Gewicht legen, weil nur wenig Material noch zur Verfügung stand. Aber die letzten Versuche zeigen doch, daß bei gleichem osmotischen Druck, aber Entziehung von Phosphaten oder Nitraten, Zoosporenbildung eintreten kann, wenn auch die Intensität nicht gerade sehr stark ist¹⁾.

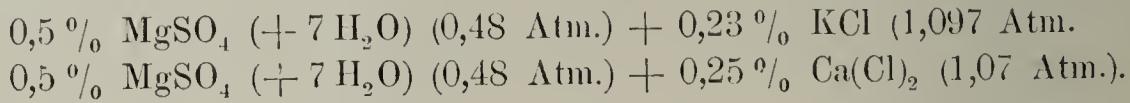
Geeignete Kontrollkulturen sprechen dafür, daß andere als die genannten Faktoren nicht von Bedeutung waren. Es wäre nicht unmöglich, daß eine Zufuhr von Sauerstoff der auslösende Reiz gewesen wäre, denn der Sauerstoffgehalt der großen abgestandenen Kulturen war sicherlich gering, während die frischen Salzlösungen sauerstoffreich waren. Die Tatsache, daß in 0,4 und in 0,3 % iger Knop-Lösung, die ebenfalls frisch bereitet waren, niemals Zoosporen gebildet wurden, stützt diese Vermutung nicht.

Bei den Ödgonien, die in schwächerem Licht gestanden hatten, war besonders in der phosphorfreien Lösung Zoosporenbildung eingetreten, weniger in stickstoffreier Lösung. Das Umgekehrte war der Fall bei den Ödgonien, die im hellen Licht (unter dem Balkon) sich aufgehalten hatten. Ich habe es leider wegen Mangel an Material nicht

1) Da die stickstoffreie Lösung gleichzeitig Kalzium nicht enthält, so wäre es möglich, daß auch bei Entfernung von Kalzium allein Zoosporenbildung erfolgen könnte. Spezielle Versuche mit Lösungen, denen nur Kalzium fehlte, die aber Nitrate enthielten, habe ich nicht gemacht. Da uns die Versuche auf pag. 18 lehren werden, daß auch bei Gegenwart von Kalzium die Entfernung des Stickstoffs aus phosphorfreien Lösungen die Wirkung der letzteren ganz wesentlich erhöht, so ist wohl auch für den Fall, daß Zoosporenbildung in der A-Lösung auftrat, anzunehmen, daß die Entfernung der Nitrate der wirksame Faktor war.

weiter verfolgen können, ob diese Erscheinung zufällig war oder ob sie Regel ist.

Es war anzunehmen, daß ein gleichzeitiger Entzug beider Salze die Intensität des Prozesses erhöhen würde. Um auch dies nachzuweisen, mußte ich, wenn ich einen gleichzeitigen Mangel an Kalium und Kalzium nicht eintreten lassen wollte, zum Magnesiumsulfat noch Chlorkalium und Chlorkalzium hinzufügen. Ich verwandte folgende Mischungen:



Mit diesen beiden Mischungen erzielte ich folgende bestätigende Resultate:

Ödgonien, seit 29. Mai 1906 in 0,5 KN im Glaskasten, kommen am gleichen Standort hell:

Am 27. Juni in	Am 2. Juli 1906
Kulturflüssigkeit	nichts
destilliertes Wasser	2—3—6 Sporen im Gesichtsfeld
in d. Lös. von $\text{MgSO}_4 + \text{KCl}$	3—12 " " "
in d. Lös. von $\text{MgSO}_4 + \text{Ca}(\text{Cl})_2$	15—20 " " "
0,4% ige Knop - Lösung	nichts

Die beiden Salzlösungen hatten einen etwas, aber nur wenig geringeren osmotischen Druck (etwa 0,1 Atmosphäre) als die 0,5% ige Knopsche Nährlösung. Da in 0,4% iger Knopscher Nährlösung, also bei einer vierfachen Verminderung des osmotischen Druckes keine Zoosporen auftraten, so kann dieser geringe Unterschied im Druck vernachlässigt werden.

Die zuletzt angegebenen Versuche wurden alle im Licht angestellt ohne Verminderung der Lichtintensität gegenüber derjenigen, unter der die Algen gewachsen waren. Daß die Wirkung der Nährsalzentziehung nicht an die Gegenwart des Lichtes gebunden ist, möchte ich aus den Vorversuchen mit destilliertem Wasser, Rohrzucker und stickstoffreier Lösung schließen, in denen die Zoosporenbildung ebenfalls im Dunkeln eintrat.

Kurz zusammengefaßt habe ich also folgendes Ergebnis:

Um bei *Oedogonium pluviale* nach Kultur in Knopscher Nährlösung Zoosporenbildung hervorzurufen, genügt eine Entziehung der Nährsalze, eine Druckverminderung im Medium ist nicht nötig. In isotonischen Rohrzucker- und Chlornatriumlösungen treten Zoosporen mit großer Regelmäßigkeit auf. Eine Entziehung entweder der Nitrate oder der Phosphate ist ausreichend, doch erhöht die Entfernung beider Salze die Intensität des Prozesses. Gleichzeitige Verringerung des osmotischen Druckes bewirkt gegenüber den isotonischen Lösungen keine

Steigerung der Intensität der Zoosporenbildung. Es ist nur ein relativer, kein absoluter Nährsalzmangel zur Veranlassung der Zoosporenbildung erforderlich.

2. Einfluß einer Steigerung des Nährsalzgehaltes.

In der Entziehung der Nährsalze ist bei *Oedogonium pluviale* nicht das einzige Mittel gegeben die Schwärmsporenbildung anzuregen. Wird *Oedogonium pluviale* längere Zeit über in destilliertem Wasser kultiviert und so einem Mangel an anorganischen Salzen ausgesetzt, so hat gerade eine Zuführung von Nährsalzen den gleichen Effekt, wie eine Entziehung derselben bei solchen Fäden, denen die Salze reichlich zur Verfügung standen.

Die Zellen der in destilliertem Wasser kultivierten Ödgonien unterscheiden sich wesentlich von denen, die längere Zeit in Knöpscher Nährlösung gelebt haben. Die Nährlösung gestattet keine Aufspeicherung von Reservestoffen. Die Zellen sind grün und besitzen einen deutlichen und durchsichtigen Chloroplasten. Stärke ist nur in Amylonherden vorhanden. Bei längerer Kultur in destilliertem Wasser dagegen sind die Zellen mit Stärke und Öl vollständig vollgefropt, oft in so hohem Grade, daß der Chloroplast ganz verdeckt wird und die Zellen verblaßt oder gelblich erscheinen. Durch Chloraljod werden die Zellen tief blauschwarz gefärbt.

Wenn man solche Ödgonien aus destilliertem Wasser in verdünnte Nährlösungen (0,1 %, 0,2 % und 0,5 %) überführt, so erfolgt lebhafteste Zoosporenbildung. Einige Beispiele unter vielen mögen die Behauptung illustrieren.

Ödgonien, in destilliertem Wasser unter dem Balkon seit 15. Juni 1906, werden unter dem Balkon hell gestellt:

Am 10. Juli 1906 in	Am 17. Juli 1906
0,1 % Knop-Lösung	6—16 kurze Keimlinge
0,2 % " "	10—15 " "
0,5 % " "	nichts
Am 18. Juli in	Am 28. Juli
0,1 % Knop-Lösung	10—12 Keiml. im Gesichtsf. Keine Stärke!
0,2 % " "	6—8 " " " "
0,5 % " "	1—3 " " " "

Ödgonien im Nordfenster in destilliertem Wasser, seit 15. Juli im Nordfenster. Am gleichen Standort hell gestellt:

Am 7. Juli in	Am 12. Juli
0,1 % Knop-Lösung	5—10 Keiml. im Gesichtsfeld
0,2 % " "	8—15 " " "
0,5 % " "	3—5 " " "

Ödgonien in destilliertem Wasser seit 29. Juli im Nordfenster.
Am gleichen Standort hell:

Am 1. Juli in	Am 5. Juli
0,1 % Knop-Lösung	5—6 Sporen im Gesichtsfeld
0,2 % „ „	10—15 und mehr „ „ „
0,5 % „ „	vereinzelte Sporen

In den Zellen, die sich nicht in Zoosporen umgewandelt hatten, waren in den Nährösungen alle Reservenmaterialien wieder aufgelöst. Die Fäden waren wieder ergrünzt wie die in einer alten Nährösungskultur und enthielten Stärke wie diese nur in Amylonherden.

Ähnliches beobachtete Klebs (1896, pag. 290 u. 291) bei *Oedogonium capillare*. Reich mit Reservestoffen versehene Fäden aus alten Wasserkulturen bildeten in verdünnten Nährösungen bei Gegenwart von nicht allzu intensivem Licht Zoosporen, während gleichzeitig eine Ergrünung der Zellen und die Auflösung der Reservestoffe erfolgte.

Meine Resultate unterscheiden sich von denen bei *Oedogonium capillare* dadurch, daß zum Gelingen des Versuches die Mitwirkung des Lichtes nicht erforderlich war. Es ist in diesem Fall bei *Oedogonium pluviale* gleichgültig für den Eintritt der Zoosporenbildung und für die Ergrünung, ob die Versuche im Licht oder im Dunkeln ausgeführt werden.

Ähnlich wie bei den vorhergehenden Versuchen ergab sich auch hier die Frage, wie weit für den Eintritt der Zoosporenbildung die osmotischen oder chemischen Eigenschaften der Nährsalze verantwortlich zu machen sind, ob in den angeführten Fällen die wasserentziehende Eigenschaft der Knopschen Nährösung in Betracht kam, oder ob die Zoosporenbildung davon abhing, daß bestimmte Nährsalze den Zellen zur Verfügung gestellt wurden.

Gegen die zuerst genannte Möglichkeit spricht eigentlich schon die Tatsache, daß der Prozeß wesentlich lebhafter eintritt, wenn die Nährösung (0,1 und 0,2 %) sehr verdünnt ist, daß dagegen in 0,5 %iger Nährösung, von der wir doch wissen, daß sie die Ödgonien in keiner Weise schädigt, die Zoosporen nur unregelmäßig gebildet werden.

Auch das verhältnismäßig späte Auftreten einer lebhaften Zoosporenbildung — meist wurden die ersten Schwärmer nach 3 Tagen beobachtet — macht eine rein osmotische Wirkung der Nährsalze schon nicht sehr wahrscheinlich.

Die Versuche, die ich zur näheren Prüfung der Frage anstellte, zeigen, daß der Wasserentziehung aus den Zellen, wie sie nach der Übertragung der Algen aus destilliertem Wasser in Knopsche Nährösung stattfinden muß, jedenfalls nicht die Hauptrolle bei der Ver-

anlassung der Schwärmerbildung zukommt. Wenn ich den osmotischen Außendruck dadurch erhöhte, daß ich die Algen in Rohrzuckerlösungen übertrug, trat niemals Zoosporenbildung ein, während in Kontrollkulturen mit Nährlösung ceteris paribus der Prozeß stets in lebhafter Weise vor sich ging. Die Reservestärke wurde in den Rohrzuckerlösungen niemals aufgelöst, sondern im Gegenteil noch vermehrt. Auch als ich statt Rohrzuckerlösungen Chlornatrium als osmotisch wirksames Mittel anwandte, wurden ebenfalls keine Zoosporen gebildet, außer in einem Fall, wo ich allerdings von der Reinheit des Chlornatriums nicht überzeugt war. In reinstem, unkristallisiertem NaCl traten keine Schwärmer auf.

Ödgonien aus destilliertem Wasser (seit 8. August im Nordfenster).

Am 19. September in	24. September
Kulturflüssigkeit	nichts
0,2 % Knop-Lösung	4—5 Sporen im Gesichtsfeld
0,15 % reinstes NaCl	nichts

Noch eine Anzahl der im folgenden angeführten Versuche machen es in hohem Grade wahrscheinlich, daß die Bedeutung der Nährlösung für die Zoosporenbildung der in destilliertem Wasser kultivierten Ödgonien in erster Linie auf der chemischen Zusammensetzung der Nährlösung beruht und nicht in ihrer Eigenschaft, osmotisch wirksam zu sein, zu suchen ist.

Da in Nährlösung eine Mischung mehrerer Substanzen vorliegt, so war eine weitere Analyse der Frage von Interesse, ob denn ein Zusammenwirken aller Komponenten der Knop-Lösung erforderlich sei oder ob es von der Gegenwart nur bestimmter Salze oder Elemente der Knopschen Nährlösung abhänge, daß Zoosporen gebildet werden.

Ich übertrug zur Untersuchung Ödgonien aus destilliertem Wasser zunächst in 0,2 %ige Lösungen von Kalziumnitrat, Kalumnitrat, Trikaliumphosphat und in eine 0,6 %ige Lösung von Magnesiumsulfat. Niemals erhielt ich Zoosporen in Kalumnitrat und schwefelsaurem Magnesium, und auch in Trikaliumphosphat traten von allen Kulturen nur in einem Falle Zoosporen (1—2 Sporen im Gesichtsfeld) auf. Die Ergebnisse mit Kalziumnitrat waren etwas unregelmäßig. Während zweimal die Versuche kein positives Resultat ergaben, fand ich zweimal 1—3 Sporen im Gesichtsfeld und einmal 1—4 Sporen im Gesichtsfeld. In den Kontrollkulturen mit der Knop-Lösung war die Zoosporenbildung stets sehr intensiv aufgetreten, wie die vorhin angeführten Daten zeigen. Nur in dem einen Falle, in dem auch Kalziumnitrat ergebnislos angewendet wurde, war die Intensität der Sporenbildung auch in der

Nährlösung gering (in 0,1 K. N. 1—2 Sporen im Gesichtsfeld, in 0,2 K. N. 2—3 Sporen im Gesichtsfeld).

Das Auftreten der Zoosporen in Kalziumnitratlösung machte noch weitere Versuche mit Kalziumsalzen erforderlich.

In 0,2 % Chlorkalzium erhielt ich einmal 2—4 Zoosporen im Gesichtsfeld, einmal 1 Spore in der ganzen Kultur, während in der Nährlösung 3—10 Sporen im Gesichtsfeld aufgetreten waren. Gipswasser wendete ich erfolglos an. Dagegen traten in einer Lösung von Kalziumphosphat (wenig Wasser wurde mit Ca-Phosphat tüchtig geschüttelt) 4—8 Zoosporen im Gesichtsfeld auf.

Demnach scheint dem Kalzium eine gewisse Rolle bei dem Eintragen der Zoosporenbildung dieser stärkereichen Ödgonien zuzukommen, wenn sich auch nach den wenigen und unregelmäßigen Resultaten nicht behaupten läßt, daß Kalziumsalze allein imstande wären, eine ebenso intensive Zoosporenbildung wie die Knopsche Nährösung zu veranlassen.

Ich möchte an dieser Stelle auf eine Angabe von Klebs (1896, pag. 292) hinweisen. Dieser Autor beobachtete bei *Oedogonium capillare* äußerst lebhafte Zoosporenbildung, nachdem er die Alge vom natürlichen Standort aus ziemlich kalkarmen Wiesenwasser in ein Aquarium gebracht hatte, das von kalkreichem Wasser durchflossen wurde. Klebs vermutet, daß die Zoosporenbildung erfolgt sei, weil der Kalkgehalt des Wassers zu groß war, um das Wachstum der Alge zu gestatten, andererseits aber die Zoosporenbildung nicht hemmen konnte, die durch den Reichtum des Wassers an Nährsalzen veranlaßt wurde. Es ist die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, daß vielleicht auch in diesem Falle bei *Oedogonium diplandrum* der Kalkgehalt die Zoosporenbildung nicht nur gestattete, sondern vielleicht sogar mit zur Veranlassung direkt beigetragen hat.

Von besonderem Interesse war es zu untersuchen, welche Bedeutung die Nitrate und Phosphate für *Oedogonium pluviale* haben, wenn die Alge in destilliertem Wasser kultiviert worden ist, ob sie allein Zoosporenbildung veranlassen können, oder ob sie ohne der Intensität des Prozesses Abbruch zu tun, aus der Nährösung fortgelassen werden können. Daß ein Phosphat allein nicht genügt, seien wir aus dem negativen Resultat der Versuche mit K_3PO_4 . Das Gleiche ließe sich für Nitrate vielleicht aus den Versuchen mit KNO_3 schließen, besonders da auch bei den Kulturen mit $Ca(NO_3)_2$ die wesentliche Bedeutung dem Kalzium zuzukommen scheint. Immerhin wäre es möglich gewesen, daß eine Kombination von Nitraten und Phosphaten für sich allein den Prozeß hätte anregen können. Die Experimente lehren das Gegenteil. Niemals traten in einer kombinierten Lösung von Natriumphosphat und Natriumnitrat Zoosporen auf.

Aus den Versuchen mit Kalziumsalzen geht ferner schon hervor, daß Zoosporen gebildet werden können, ohne daß Nitrate und Phosphate mitwirken. Exakte Versuche stellte ich mit folgender Lösung an, die alle Elemente der Knop-Lösung außer Stickstoff und Phosphor enthielt: 0,2 % ($MgSO_4 + KCl + Ca(Cl)_2$ zu gleichen Teilen).

Das Resultat war folgendes:

Ödgonien aus destill. Wasser (seit 15. Juni unter dem Balkon)	
unter dem Balkon hell am 18. Juli in die genannte Lösung	am 23. Juli 6—10 Sporen im Gesichtsfeld
am 25. Juli in die genannte Lösung	am 28. Juli 10—12 Sporen im Gesichtsfeld
am 25. Juli in die genannte Lösung doch dunkel unter dem Balkon	am 28. Juli 20—25 Sporen im Gesichtsfeld

In beiden Fällen war die Intensität der Zoosporenbildung nicht schwächer, als in der vollständigen auch N. und P. enthaltenden Knop-Lösung.

Die negativen Resultate, die ich mit der 0,2 %igen phosphorfreien B-Lösung ($MgSO_4 + KNO_3 + Ca(NO_3)_2$) erhielt, dürfen uns hierbei nicht irritieren, da Kalium in dieser Lösung nur in der nicht sehr günstigen Form von Kalisalpeter gegeben war. Wird Kalium in einer weniger giftigen Form, z. B. als K_3PO_4 , gegeben, so kann es zusammen mit schwefelsaurem Magnesium Zoosporenbildung veranlassen, wenn auch nicht mit der Intensität, wie wenn noch Kalzium zur Verfügung gestanden hätte. Das zeigt ein Versuch, in dem ich Ödgonien aus dem destillierten Wasser in die stickstofffreie A-Lösung brachte ($K_3PO_4 + MgSO_4$).

Ödgonien im destillierten Wasser unter dem Balkon seit 15. Juni.

Am 25. Juli in 0,2 % A-Lösung	Am 27. Juli 1—4 Zoosporen im Gesichtsfeld.
----------------------------------	---

Alle diese Versuche wurden, wo nichts besonderes bemerkt ist, im Hellen ohne irgend welche Schwächung der Lichtintensität ausgeführt. In den zahlreichen Kontrollversuchen mit der Kulturflüssigkeit — diese wurde vor der Verwendung filtriert — wurden niemals Zoosporen gebildet. Wenn einmal auch in einer Kultur, die im Nordfenster stand, in destilliertem Wasser Zoosporenbildung beobachtet wurde, so ist dieses Verhalten der Alge auf die Wirkung geschwächter Lichtintensität zurückzuführen, wie wir später pag. 30 sehen werden.

Einiges möchte ich noch bemerken über den Stärkegehalt der Zellen in den einzelnen Salzlösungen. Am schnellsten und intensivsten erfolgte die Auflösung der Stärke in den Knopschen Nährlösungen, aber auch in den Lösungen einzelner Salze, außer KNO_3 , wo die Zellen

sehr bald zugrunde gingen, verschwand die Stärke in den Zellen allmählich, wenn auch oft sehr unregelmäßig. Das Gleiche gilt für die N-freie (A) und die P-freie (B) Lösung. Die Nitrate und Phosphate haben auch für die Auflösung der Stärke in den Fäden von *Oedogonium* keine Bedeutung. In der kombinierten Lösung von Natriumnitrat und Natriumphosphat trat niemals eine Verminderung des Stärkegehaltes in den Zellen ein gegenüber den Kontrollkulturen mit der alten Kulturflüssigkeit.

Ein ähnliches Verhalten wie die Ödgonien, die längere Zeit ohne wesentliche anorganische Nährsalze in destilliertem Wasser gelebt haben, zeigten solche Fäden, die in Rohrzuckerlösungen kultiviert waren. In den Rohrzuckerlösungen geraten die Ödgonien alsbald in einen jämmerlichen Zustand. Sie werden noch mehr als in destilliertem Wasser mit Reservematerialien angefüllt und verblassen vollständig. Diese Ödgonien lassen sich auf die gleiche Weise zur Zoosporenbildung bringen wie die in destilliertem Wasser kultivierten Fäden. Wenn man die Zuckerlösung durch Nährlösung ersetzt, so werden auch hier alsbald die Reservestoffe gelöst, die Zellen ergrünen wieder und bilden lebhaft Zoosporen. Ich habe das Experiment fast mit allen alten Rohrzuckerkulturen gemacht, in denen die Schwärmerbildung — sie war nach Überführung aus Knop-Lösung oder aus dem Brunnen eingetreten — aufgehört hatte. Die eine Hälfte der in jeder Dose befindlichen Fäden brachte ich in destilliertes Wasser, die andere in 0,2 %ige Knopsche Nährlösung. Während nach der Überführung in destilliertes Wasser niemals Stärke gelöst wurde und keine Zoosporen auftraten, wurden in der Nährlösung zahlreiche, oft mehr Zoosporen gebildet, als früher in der Zuckerlösung entstanden waren.

Ödgonien längere Zeit in größeren Rohrzuckerkulturen zu halten, ist wegen der vielen Bakterien, die die Kulturen alsbald verunreinigen und Fäulnis hervorrufen, schwer durchzuführen. Da es mir gelang eine größere Rohrzuckerkultur leidlich rein zu erhalten, so konnte ich eine größere Reihe von Versuchen mit gleichmäßig erzogenem Material anstellen.

Ödgonien in 5 %iger Rohrzuckerlösung seit 15. Juni unter dem Balkon.

Am 1. Juli in	4. Juli	7. Juli
Kulturflüssigkeit	nichts	nichts
0,2 KN-Lösung	grün, Anzahl Sporen	10—20 Sporen im Gesichtsfeld
0,5 KN-Lösung	grün, einzelne „	1 Spore in jedem Gesichtsfeld
destilliertes Wasser	nichts	nichts
0,1 % NaCl-Lösung	nichts	nichts
2,5 % Rohrzuckerlösung	nichts	nichts

Ödgonien in 5 %iger Rohrzuckerlösung seit 26. Mai unter dem Balkon.

Am 27. Juli in	2. Juli	4. Juli
0.5 KN-Lösung	5—8 Keiml. im Gesichtsf. ganz grün	grün, Stärke nur in Amylon- herden
Kulturflüssigkeit	eine vereinzelte Spore	enorm viel Stärke
0.22 % NaCl + 0,1 KN	5—6 an manchen Stellen 10—12 Sporen im Gesichtsf.	Zellen grün, nur in manchen noch Stärke

Demnach genügt nicht bei diesen Ödgonien in Rohrzuckerlösungen eine einfache Verminderung des osmotischen Druckes im Außenmedium zur Auslösung des Prozesses, wie die Versuche mit destilliertem Wasser, Chlornatrium und Rohrzucker zeigen. Es müssen Nährsalze mitwirken, damit die Reservestoffe gelöst und Zoosporen gebildet werden. Leider stand mir nicht mehr Material zur Verfügung, um speziell untersuchen zu können, ob dieselben Salze in Betracht kommen, wie wenn die Ödgonien in destilliertem Wasser kultiviert worden waren.

Ich fasse die letzten Ergebnisse noch einmal zusammen:

Ödgonien, die in destilliertem Wasser kultiviert worden sind und die infolgedessen einen reichen Vorrat von Stärke in sich aufgespeichert haben, lösen ihre Reservestoffe auf und bilden Zoosporen, sobald sie in verdünnte Knopsche Nährlösung übergeführt werden. Die Wirkung der Nährlösung beruht nicht auf dem Gehalt an Nitraten und Phosphaten, die allein nicht imstande sind, die Bildung der Zoosporen zu veranlassen. Dagegen vermag eine geeignete Kombination der anderen in der Knopschen Nährlösung enthaltenen Elemente (Mg, S, K, Ca) die Nährlösung in dieser Hinsicht zu ersetzen. Der Prozeß ist nicht vom Licht abhängig, sondern erfolgt in gleicher Weise, auch im Dunkeln. Auch Ödgonien, die in Rohrzucker kultiviert worden sind, werden durch Nährlösung zur Auflösung der Reservestoffe und zur Zoosporenbildung veranlaßt.

Versuche mit Fäden, die in Leitungswasser oder im Brunnenreservoir gewachsen sind.

Führen bei Ödgonien, die im Brunnen gewachsen sind und vor der Versuchsanstellung nicht unter besonderen, mir bekannten Bedingungen kultiviert wurden, auch dieselben äußeren Mittel, wie sie in den eben beschriebenen Versuchen angewandt wurden, zur Zoosporenbildung, so ließ sich doch die Art und Weise, auf welche diese Mittel ihre Wirkung ausübten, nur schwer erkennen. Die Versuche mit solchen Ödgonien, die direkt dem Brunnen entnommen wurden, zeigen, wie wenig wir das Verhalten einer Alge äußeren Faktoren gegenüber be-

urteilen können, wenn wir nicht wissen, unter welchen Bedingungen die Algen früher gelebt haben.

Ich erhielt Zoosporen, wenn ich Ödagonien aus dem Brunnen überführte in destilliertes Wasser, in Nährlösung, Traubenzucker, Rohrzucker und Maltose. In Chlornatrium traten nur manchmal einige Zoosporen auf. Aber auch in den anderen Lösungen war die Bildung der Schwärmer insofern ziemlich unregelmäßig, als sie manchmal auch in destilliertem Wasser, in Nährlösung und Rohrzucker ausblieb. Ich führe einige Beispiele an, wo der Prozeß fast überall eintrat. Für die Versuche stellte ich die Kulturdosen in ein großes Glasgefäß mit eingeschliffenem Deckel. Die Gefäße wurden dann in den Brunnen gehängt. Durch Verschmieren des Randes des Gefäßes mit Wachs verhinderte ich den Eintritt von Wasser.

Brunnentemperatur 15°.

Am 4. Mai in	8. Mai	9. Mai
destilliertes Wasser	1—3 Sporen im Gesichtsf.	bis 7 u. 9 Sporen im Gesichtsf.
Leitungswasser	5—6 „ „ „	bis 10 „ „ „
Brunnenwasser	nichts	nichts
2%ige Traubenzuckerl.	vereinzelte Sporen	vereinzelte Sporen
2%ige Rohrzuckerl.	6—10 Sporen im Gesichtsf.	6—10 Sporen im Gesichtsf.
0,2 KN-Lösung	sehr viel Sporen	60—70 „ „ „

Brunnentemperatur 13°.

Am 5. Mai in	8. Mai	9. Mai
destilliertes Wasser	20—30 Sporen im Gesichtsf.	20—30 Sporen im Gesichtsf.
Leitungswasser	nichts	8—10 „ „ „
Brunnenwasser	einige wenige Sporen	nichts
2%ige Traubenzuckerl.	6—10 Sporen im Gesichtsf.	12—20 Sporen im Gesichtsf.
2%ige Rohrzuckerl.	20—25 „ „ „	45—60 „ „ „
0,2 KN-Lösung		

Am größten war die Intensität der Zoosporenbildung in der Nährlösung. In vielen Fällen wurden überhaupt nur in der Knoplösung, nicht aber im destillierten Wasser und in Rohrzuckerlösung Zoosporen entwickelt. In Kontrollkulturen, wo ich Ödagonien wieder in das Brunnenwasser, in dem sie gewachsen waren, überführte, konnte ich niemals Zoosporen finden.

Da Temperatur und Lichtintensität überall dieselben waren, kann natürlich in den Fällen, in denen Zoosporen auftraten, ein Veränderung in diesen beiden Faktoren hierfür nicht verantwortlich gemacht werden.

Zunächst lag auch hier wieder die Möglichkeit nahe, daß der äußere Reiz einfach rein physikalischer Natur sei, daß es sich einfach um Änderungen des osmotischen Druckes handele, der einmal durch die

Salz- und Zuckerlösungen erhöht und im anderen Fall nach der Übertragung in destilliertes Wasser herabgesetzt wurde.

Ich führte Ödgonien in eingedicktes Brunnenwasser über, also in eine Flüssigkeit von höherem osmotischen Druck, der erreicht wurde, ohne daß fremde Stoffe dazu verwandt wurden. Niemals trat Zoosporenbildung ein. Die Fäden hielten sich in eingedicktem Brunnenwasser sehr gut. Würde umgekehrt eine Herabsetzung des Mediums die Zoosporenbildung veranlassen, so hätten Zoosporen auftreten müssen, als ich die Fäden aus dem eingedickten Brunnenwasser wieder in gewöhnliches Brunnenwasser brachte. Das war auch nicht der Fall.

Eine direkte rein chemische Wirkung der Lösungen, in denen Zoosporenbildung eintrat, hat bei der Verschiedenheit der Stoffe: Knopsche Nährlösung, Rohrzucker, destilliertes Wasser, von denen wir wissen, in wie verschiedener Weise sie die Ödgonien beeinflussen, ebenfalls wenig Wahrscheinlichkeit für sich.

Auch ein Unterschied in der Menge des zur Verfügung stehenden Sauerstoffes kann wohl nicht als Reiz in Betracht kommen. Es gelang nicht durch Durchleiten von Luft durch Brunnenwasserkulturen die Zoosporenbildung im Brunnenwasser anzuregen. Es sei dies im Gegensatz zu den Angaben von Walz (1858, pag. 497—502) hervorgehoben der behauptet, daß auf diesen Reiz hin die Ödgonien zur Schwärmerbildung zu schreiten vermöchten.

Vielleicht läßt sich eine andere Annahme machen. Es wäre denkbar, daß im Brunnenwasser durch die Lebenstätigkeit von Bakterien und vielen anderen Organismen oder durch Fäulnis von Blättern usw. Stoffe angehäuft worden sind, die die Lebenstätigkeit der Algen in irgend einer uns unbekannten Weise beeinflußten, so daß erst nach Entfernung dieser Stoffe, nicht aber in der alten Flüssigkeit selbst Zoosporenbildung eintreten konnte.

Die allgemeinen Bedingungen, unter denen die Ödgonien im Brunnenwasser gewachsen sind, kennen wir eben nicht genau; um klare Schlüsse über die Wirkung der die Zoosporenbildung auslösenden Reize ziehen zu können, müßten wir aber gerade über sie ganz genau orientiert sein. Der Zustand der Algen im Brunnen ist jeden Tag ein anderer, je nachdem am Tage vorher die Sonne schien oder ob trübe Tage waren. Und auch die inneren Verhältnisse in den Zellen der einzelnen Fäden sind dann natürlich in demselben Brunnen auch vollständig verschieden. Die einen Fäden finden sich in einem solchen Zustand, daß sie durch dieselben Mittel zur Zoosporenbildung gebracht werden können wie die Ödgonien, die in destilliertem Wasser kultiviert sind. Andere Zellen

sind noch lebenskräftiger und ähneln in ihren inneren Verhältnissen mehr den in Nährösung kultivierten Fäden und reagieren auf dieselben äußeren Reize wie diese.

Dieselben Schlüsse gelten im wesentlichen auch für die Resultate, die ich mit den Ödgonien erzielte, die ich im Leitungswasser in großen Glasquarien kultivierte. Bei sehr heller Beleuchtung konnte ich nur einmal in einer Kultur unter dem Balkon in 0,5 %iger Knopscher Nährösung lebhaftere Zoosporenbildung (25—35 Sporen im Gesichtsfeld) beobachten. Bessere Resultate erhielt ich erst, als ich die Versuche bei schwächerem Licht anstellte. Im wesentlichen stimmte das Verhalten der Leitungswasser-Ödgonien mit dem überein, welches die Brunnen-Ödgonien zeigten. Ich komme darauf noch einmal zurück.

Um auch für *Oedogonium pluviale* die Konzentrationsgrenzen, innerhalb deren Zoosporenbildung erfolgen kann, zu ermitteln, ging ich von Fäden aus, die dem Brunnenbassin entnommen wurden. Die Kulturen wurden im Nordfenster angesetzt. Die obere Grenze für die Zoosporenbildung in Rohrzuckerlösungen liegt bei 14 % Rohrzucker. Doch schon in 6 und 8 %igen Lösungen traten die Zoosporen nicht mehr aus¹⁾.

In Knopscher Nährösung ist die Zoosporenbildung schon bei niedriger Konzentration gehemmt. Schon in 1,4 %iger Nährösung treten nur noch vereinzelte Zoosporen auf. Auch für *Oedogonium pluviale* haben wir demnach die für viele anderen Algen bekannte Erscheinung, daß die Zoosporenbildung in anorganischen Salzlösungen schon bei viel niedrigerer Konzentration nicht mehr eintritt als in Lösungen organischer Stoffe.

Einfluß von Licht und Dunkelheit.

In den vorhergehenden Abschnitten habe ich den Einfluß der Lichtintensität nur insofern berücksichtigt, als ich zeigte, daß die Zoosporenbildung durch Dunkelheit nicht gehemmt wird und daß die Mitwirkung des Lichtes nicht für den Eintritt des Prozesses erforderlich sei.

Eine Entfernung der Nährsalze hatte für die in Knopscher Nährösung kultivierten Ödgonien im Licht und im Dunkeln den gleichen Effekt und ebenso lösten die im destillierten Wasser gezogenen Fäden im Hellen und im Dunkeln ihre Stärke auf und bildeten Zoosporen. Aber wenn auch die Dunkelheit als allgemeine Bedingung für die Zoosporenbildung nicht weiter in Betracht kommt, wenn andere Reize

1) Zum Nachweis nicht ausgetretener Zoosporen verfuhr ich wie Klebs (1896, pag. 264). Nach kurzem Aufenthalt in konzentrierter Salpeterlösung wurden die Fäden in Jodjodkalium gebracht, worin sich die Hüllen, welche die Zoosporen der Ödgonien ausscheiden, violett tingieren.

den Prozeß veranlassen, so schließt das ihre Bedeutung als spezielle Bedingung noch nicht aus, durch die allein ohne direkte Mitwirkung anderer Reize Zoosporenbildung ausgelöst wird.

Auch dem Einfluß der Dunkelheit gegenüber verhält sich *Ödgonium* verschieden je nach den vorhergehenden allgemeinen Wachstumsbedingungen. Daß das Verhalten der Algen Licht und Dunkelheit gegenüber häufig von den vorhergehenden Kulturbedingungen abhängig ist, ist bekannt. Während *Hydrodictyon* z. B., wenn es in Nährösung kultiviert ist, in der Regel Licht nötig hat, um beim Übergang aus der Nährösung in Wasser Zoosporen zu bilden, ist es für dieselbe Alge gleichgültig, ob Licht mitwirkt oder nicht, wenn sie aus fließendem Wasser in stehendes übergeführt zur Zoosporenbildung schreitet. Bei *Hydrodictyon* kommt Dunkelheit nur als allgemeine Bedingung in Betracht, sie selbst löst in diesem Fall keine Zoosporenbildung aus. Anders bei *Oedogonium pluviale*. Hier ist es die Dunkelheit als spezieller Reiz, der sich von den vorangehenden Kulturbedingungen als abhängig erweist.

Bei Ödgonien, die in Nährösung kultiviert wurden und bei denen es infolgedessen zu keiner Aufspeicherung von Reservestoffen gekommen war, kann Dunkelheit allein noch keine Zoosporenbildung herbeiführen, wenn nicht gleichzeitig auch die Nährsalze entzogen werden. In den 21 Kulturen, wo ich Nährösungsödgonien in der Kulturflüssigkeit verdunkelte, wurden niemals Zoosporen gebildet. Auch einen regelmäßigen Unterschied in der Intensität der Zoosporenbildung im Licht und im Dunkeln bei gleichzeitiger Nahrungsentziehung konnte ich nicht feststellen.

Ganz anders als Nährösungsödgonien verhalten sich die Fäden, die in destilliertem Wasser kultiviert wurden und die mit Reservestoffen angefüllt waren, der Dunkelheit gegenüber. Bei ihnen läßt sich durch einfache Verdunkelung in der Kulturflüssigkeit, ohne daß andere Einflüsse mit im Spiele sind, Zoosporenbildung erzielen. Allerdings trat niemals der Prozeß mit derselben Intensität ein wie bei der Überführung der Ödgonien in verdünnte Nährösungen.

Ödgonien aus destilliertem Wasser (seit 15. April 1906 unter dem Balkon) am gleichen Standort.

7. Juli	16. Juli	17. Juli
Kulturflüssigkeit hell	nichts	3 Sporen in der ganzen Kultur
„ dunkel	2—5 Sporen im Gesichtsf.	2—5 Sporen im Gesichtsf.
0,1 KN-Lösung hell	6—10 „ „ „	6—16 „ „ „
0,1 KN-Lösung dunkel	6—12 „ „ „	20—25 „ „ „
0,2 KN-Lösung hell	10—15 „ „ „	10—15 „ „ „
0,2 KN-Lösung dunkel	2—3 „ „ „	3—5 „ „ „

18. Juli	21. Juli	23. Juli
Kulturflüssigkeit hell dunkel 0,1 KN-Lösung hell 0,1 KN-Lösung dunkel 0,2 KN-Lösung hell 0,2 KN-Lösung dunkel	nichts nur wenige Sporen wenige Sporen	nichts 1 Spore im Gesichtsf. 10—12 Sporen im Gesichtsf. 3—5 „ „ „ 3—5 „ „ „ 10—12 „ „ „
25. Juli	27. Juli	28. Juli
Kulturflüssigkeit hell „ dunkel 0,2 KN-Lösung hell 0,2 KN-Lösung dunkel	nichts „ Sporen „	vereinzelte Sporen 1—3 Sporen im Gesichtsf. 3—10 „ „ „ 20—30 „ „ „

Ich erwähnte in dem Abschnitt, der über die in destilliertem Wasser gewachsenen Ödogonien handelte, daß einmal auch im Hellen ohne Veränderung der Kulturflüssigkeit Zoosporen aufgetreten seien. Die Kultur stand auf meinem Arbeitstisch am Nordfenster, wo das Licht an sich schon verhältnismäßig schwach ist. In jenen Tagen regnete es tüchtig. Der Himmel war vollständig bedeckt und es herrschte ausnahmsweise starke Dunkelheit. Zweifellos ist die Zoosporenbildung auch in dieser Kultur auf die starke Schwächung der Lichtintensität zurückzuführen.

Klebs (1896, pag. 25 u. ff. und pag. 286) hat ja durch methodische Versuche für *Vaucheria repens* und *Oedogonium capillare* nachgewiesen, daß bereits durch eine relative Schwächung der Lichtintensität Zoosporenbildung ausgelöst werden kann. Vermutlich ist das auch bei *Oedogonium pluviale* der Fall.

Die Wirkung der Knopschen Nährlösung wurde durch gleichzeitige Verdunkelung nicht erhöht. Auch hier schwankte wie bei den in Knopscher Nährlösung kultivierten und in destilliertes Wasser übertragenen Fäden die Intensität der Zoosporenbildung einmal zugunsten der Kulturen im Licht, das andere Mal zugunsten der verdunkelten Kulturen.

Daß Dunkelheit und Zuführung von Nährsalzen den gleichen formativen Effekt haben, ist bisher nur bei *Vaucheria clavata* bekannt. Wird diese Alge in Wasser kultiviert, so läßt sich Zoosporenbildung sowohl durch Verdunkelung als auch durch Überführung in Knopsche Nährlösung erzielen, allerdings ist im Gegensatz zu *Oedogonium pluviale* die Wirkung der Nährsalze von der Gegenwart des Lichtes abhängig.

Wir haben vorhin gesehen, daß die Zoosporenbildung bei Ödogonien, die in destilliertem Wasser oder in Rohrzucker kultiviert waren

und in Nährösung übertragen wurden, von der Auflösung der gespeicherten Reservestoffe und einer Ergrünung der Zellen begleitet war. Es ist nun interessant zu konstatieren, daß die gleiche Erscheinung auch unter dem Einfluß der Dunkelheit auftritt. Die Zellen können schon ganz gelb und blaß sein, aber sobald sie verdunkelt werden, lösen sie alsbald fast alle Stärke auf und ergrünen wieder. Während zu Beginn der Versuche und in den Kontrollkulturen im Licht mit destilliertem Wasser die Fäden durch Chloraljod tiefblau gefärbt wurden, zeichneten sich alle Dunkelkulturen dadurch aus, daß Stärke in den Zellen nur in Amylonherden vorhanden war.

Was die Zeit des Eintrittes der Zoosporenbildung betrifft, so fand ich keinen scharfen Unterschied, je nachdem der Prozeß durch Verdunkelung oder durch Steigerung des Nährsalzgehaltes angeregt worden war. Die Zoosporen traten meist nach 3 Tagen auf.

Bei den Ödgonien, die in Zuckerlösungen kultiviert waren, erwies sich der Reiz der Dunkelheit allein als nicht genügend, weder um in der Kulturflüssigkeit Zoosporenbildung noch um die Ergrünung der Zellen zu veranlassen. Auch dann blieb Verdunkelung erfolglos, als die Zuckerlösung durch destilliertes Wasser ersetzt wurde, höchstens ließ sich im destillierten Wasser im dunkeln eine geringe Abnahme des Stärkegehaltes konstatieren. Erst die Gegenwart von Nährsalzen ermöglichte in diesem Falle beide Prozesse.

Einiges möchte ich noch über den Einfluß der Dunkelheit auf die Ödgonien sagen, die im Brunnen wuchsen oder im Aquarium im Leitungswasser kultiviert wurden.

Durch einfache Verdunkelung im Brunnenwasser selbst ließ sich niemals Zoosporenbildung erzielen. Aber eine gewisse Bedeutung scheint die Dunkelheit für die Brunnen-Ödgonien doch zu haben. Ich führe einige Versuche an, wo ich Ödgonien aus dem Brunnenwasser in destilliertes Wasser brachte und die Kulturen wieder, um Temperaturdifferenzen zu vermeiden, verdunkelt in das Brunnenbassin hing. Die Intensität der Zoosporenbildung ist etwas größer, wenn neben der Überführung aus Brunnenwasser in destilliertes Wasser noch Dunkelheit mitwirkte. Umgekehrt liegen die Verhältnisse, wenn die Ödgonien in Nährösung gebracht wurden. Hier war die Gegenwart von Licht fördernd. Es traten zwar Zoosporen im Licht und im Dunkeln auf, aber im Dunkeln war die Zahl der Schwärmer meist weit geringer.

Ödogenien aus dem Brunnenbassin.
Standort der Kulturen: Brunnenbassin.

27. April	30. April	7. Mai
Brunnenwasser hell dunkel destill. Wasser hell „ „ dunkel	nichts ” Sporen “	nichts 15—20 Sporen im Gesichtsf. 20 „ „ „
30. April	2. Mai	
Brunnenwasser hell destill. Wasser hell „ „ dunkel	nichts kaum Zoosporen 15—20 Sporen	
4. Mai	7. Mai	9. Mai
destill. Wasser hell „ „ dunkel 0,2 KN-Lösung hell 0,2 KN-Lösung dunkel Brunnenwasser hell „ „ dunkel	einzelne bewegl. Sporen sehr viel Schwärmer „ „ „ nichts „ „	bis 7 u. 9 Sporen im Gesichtsf. 20—30 „ „ „ 60—70 „ „ „ 15—20 „ „ „ nichts „ „

Manchmal trat nur in Knopscher Nährlösung im Hellen Zoosporenbildung ein, während in destilliertem Wasser im Hellen und in Nährlösung im Dunkeln keine Zoosporen gebildet wurden. Auch eine Ausnahme wurde beobachtet, wo in destilliertem Wasser im Hellen 20—30 Sporen, im Dunkeln nur 10 Sporen sich im Gesichtsfeld fanden.

Dem Einfluß der geschwächten Lichtintensität ist es wohl auch zuzuschreiben, daß die Zoosporenbildung im destillierten Wasser immer sehr intensiv auftrat, wenn ich die Versuche mit Brunnenödogenien auf dem Arbeitstisch, also bei einer im Verhältnis zum Licht im Freien geschwächten Lichtintensität anstellte. In Knopscher Nährlösung war am gleichen Standort die Zoosporenbildung nicht so intensiv wie im destillierten Wasser.

Standort: Nordfenster hell.

1. Mai	4. Mai	7. Mai
Kulturflüssigkeit	nichts	nichts
destilliertes Wasser	ganze Reihe Zoosporen	20—30 Sporen im Gesichtsf.
0,1 KN-Lösung	einige Sporen	12—19 „ „ „
0,2 KN-Lösung	„ „ „	6—18 „ „ „
0,5 KN-Lösung	12—15 Sporen im Gesichtsf.	15—21 „ „ „

In destilliertem Wasser traten oft in Kulturen am Nordfenster 30 und mehr Sporen im Gesichtsfeld auf.

Ich würde nicht allzuviel Gewicht auf die vorhin genannten Beobachtungen legen, wenn sich die Leitungswasser-Ödogenien aus dem Aquarium nicht ebenso verhalten hätten.

Ödogenien im Aquarium seit Anfang Mai.

11. Juni in	Standort	14. Juni	15. Juni
destilliertem Wasser	Nordfenster hell	einzelne Sporen	2—6 Sporen im Gesichtsfeld
" "	" dunkel	10—15 Sporen	20—25 Sporen im Gesichtsfeld
0,5 % KN-Lösung	" hell	eine Reihe Sporen	10—20 Keimlinge im Gesichtsfeld
0,5 % KN-Lösung	" dunkel	" " "	manchmal 5—6 Keimlinge im Gesichtsf.

6. Juni in	Standort	8. Juni	11. Juni
destilliertem Wasser	Nordfenster hell	vereinzelt 1 Keimling	3—6 Keimlinge im Gesichtsfeld
" "	" dunkel	bis zu 8 Sporen	30—40 Sporen im Gesichtsfeld
" "	Thermost. 26°	3—4 Sporen im Gesichtsf.	30—40 Sporen im Gesichtsfeld
0,5 KN-Lösung	Nordfenster hell	3—4 " " "	30—40 Keimlinge im Gesichtsfeld
0,5 KN-Lösung	" dunkel	3—4 " " "	25—30 Sporen im Gesichtsfeld
0,5 KN-Lösung	Thermost. 26°	nichts	10—15 Sporen im Gesichtsfeld

Auch bei den Versuchen, die ich im Keller im Eisschrank ansetzte, wurden im destillierten Wasser mehr Zoosporen gebildet als in der Nährlösung. Ich verweise auf die Daten auf pag. 34.

Der Einfluß der Dunkelheit auf die Zoosporenbildung von *Oedogonium pluviale* läßt sich kurz folgendermaßen zusammenfassen. Als spezieller äußerer Reiz für die Zoosporenbildung wirkt die Dunkelheit nur bei solchen Fäden, die infolge von vorhergehender Kultur in destilliertem Wasser mit Stärke angefüllt sind. Dagegen können Ödogenien, die in Nährösungen kultiviert sind, durch Verdunkelung allein, ohne Entziehung der Nährsalze nicht zur Zoosporenbildung veranlaßt werden. Ödogenien, die im Brunnen oder in Leitungswasser gewachsen sind, bilden nach Verdunkelung in der Kulturflüssigkeit ebenfalls keine Zoosporen, doch hat bei ihnen die Dunkelheit einen Einfluß auf die Intensität des Prozesses, wenn dieser durch andere Faktoren veranlaßt wird. In diesem Fall ist die Zahl der Zoosporen im destillierten Wasser im Dunkeln größer als im Hellen. Umgekehrt werden in Knopscher Nährlösung im Hellen mehr Zoosporen gebildet als im Dunkeln.

Einfluß der Temperatur.

Für *Oedogonium diplandrum* hat Klebs (1896, pag. 267) nachgewiesen, daß eine Temperaturerhöhung von unter 10° C auf eine

Temperatur über 10° C Zoosporenbildung zur Folge hat. Zahlreiche Versuche lehrten, daß ein gleicher oder ähnlicher Temperaturwechsel bei *Oedogonium pluviale* nicht denselben Effekt hat. Der Übergang aus niedriger Temperatur in eine höhere kann an sich noch nicht die Zellen zur Zoosporenbildung reizen. Ebenso kommt bei *Oedogonium pluviale* auch der Übergang aus höherer Temperatur in niedere nicht als äußere Veranlassung in Betracht. Die Temperaturgrenzen bei *Oedogonium pluviale* habe ich nicht ganz genau festgestellt. Noch bei 27° können Schwärmer gebildet werden und austreten, ebenso bei 5—6°. In niedriger Temperatur wird die Zoosporenbildung verzögert, ohne daß jedoch die Intensität geschwächtet wird. Im Gegenteil, gerade in niedriger Temperatur trat die Zoosporenbildung sehr intensiv auf und dauerte lange an. Ein Vergleich von Versuchen im Eisschrank unter 6° und solchen, die im Nordfenster im Dunkeln angesetzt wurden, läßt diesen Unterschied hervortreten.

Ödogenien aus dem Aquarium.

11. Juni 1906	Standort	14. Juni 1906	15. Juni	19.—26. Juni
Kulturflüssigkeit	Nordfenster dunkel	nichts	nichts	nichts
Destill. Wasser	Eisschrank	" 10—15 Schwärmer	20—25 Sporen im Gesichtsfeld	"
„ „	Nordfenster dunkel	10—15 Schwärmer	20—25 Schwärmer	20—30 z. T. noch schwärmende Sporen
2,5% Rohrzucker	Nordfenster dunkel	15—20 Schwärmer	noch Schwärmer	keine Schwärmer mehr
2,5% „	Eisschrank	nichts	nichts	80—90 z. T. noch schwärmende Sporen
0,5 KN-Lös.	Nordfenster dunkel	einige Sporen	5—6 Sporen	5—6 Keimlinge im Gesichtsfeld
0,5 KN-Lös.	Eisschrank	nichts	nichts	2—4 schwärmende Sporen im Gesichtsfeld

6. Juni 1906	Standort	14. Juni 1906	19.—22. Jnni	26. Juni
Kulturflüssigkeit	Nordfenster dunkel	nichts	nichts	nichts
„	Eisschrank	vereinzelt 1 Keimling	„	"
0,5 KN-Lös.	Nordfenster dunkel	25—30 Keimlinge	rund 15 Schwärmer im Gesichtsfeld	keine Schwärmer mehr
0,5 KN-Lös.	Eisschrank	nichts		
Destill. Wasser	Nordfenster dunkel	30—40 Sporen, keine Schwärmer		
Destill. Wasser	Eisschrank	nichts	15—20 Schwärmer	keine Schwärmer mehr

Vergleich zwischen *Oedogonium diplandrum*, *Oedogonium pluviale* und *Oedogonium capillare*.

Es ist vielleicht interessant die Mittel zu vergleichen, die bei den drei bisher hinreichend untersuchten Ödogenienspezies die Zoosporenbildung veranlassen. Ich zitiere dazu die Zusammenfassung der Resultate von *Oedogonium diplandrum* und *Oedogonium capillare*, die Klebs (1896, pag. 294 u. 295) gibt.

Bei *Ödgonium capillare* dienen als Anlaß zur Zoosporenbildung folgende Bedingungen:

- ,,1. Der Aufenthalt im Dunkeln in allen Fällen die sicherste Methode.
2. Der Aufenthalt in Rohrzuckerlösungen von 4—10 % bei mäßigem Licht; bei Lichtabschluß die Intensität des Prozesses sehr fördernd, dagegen für sich allein unwirksam bei heller sonniger Beleuchtung.
3. Nach vorangegangener starker Aufspeicherung von Reservestoffen in lange stehenden Wasserkulturen der Aufenthalt in verdünnter Nährlösung bei Gegenwart von Licht.

Sehr schwach oder garnicht wirkt der Übergang aus Nährlösung in Wasser, ebenso der Übergang aus fließendem in stehendes Wasser und jedweder Temperaturwechsel; unwirksam ist auch der Übergang aus feuchter Luft in Wasser.“

Die Zoosporenbildung von *Oedogonium diplandrum* wird durch keine der für *Oedogonium capillare* maßgebenden Bedingungen veranlaßt. Vielmehr sind wirksam:

- ,,1. Der Übergang aus fließendem in stehendes Wasser.
2. Der Übergang aus niederer (unter 10°) in höhere Temperatur.
3. Der Übergang aus Nährlösung in Wasser.“

Zum Vergleich stelle ich hier die Mittel zusammen, die bei *Oedogonium pluviale* zur ungeschlechtlichen Fortpflanzung führen:

- ,,1. Überführung aus Nährlösung in Wasser.
2. Überführung von Ödgonien, die stark Reservestoffe gespeichert haben in verdünnte Nährlösungen (0,1 % u. 0,2 %).
3. Verdunkelung nach Kultur in destilliertem Wasser.“

Die drei einander so nahe stehenden Formen und besonders die einander morphologisch völlig gleichen Spezies *Oedogonium diplandrum* und *Oedogonium pluviale* zeigen in ihrem physiologischen Verhalten große Unterschiede. *Oedogonium pluviale* nimmt eine Mittelstellung zwischen *Oedogonium diplandrum* und *Oedogonium capillare* ein, ähnelt aber im ganzen mehr dem *Oedogonium capillare*.

Versuche mit *Haematococcus pluvialis*.

Seit dem Beginn der mikroskopischen Forschung ist die Erscheinung bekannt, daß die Zystenzustände vieler niederen Organismen lange Zeit völlige Austrocknung ertragen können und dann, sobald sie wieder benetzt werden, fähig sind, von neuem ihre Lebenstätigkeiten wieder wie vor der Eintrocknung aufzunehmen und sich fortzupflanzen. Schon

Leeuwenhoek beobachtete dieses Phänomen vermutlich bei *Haemato-coccus pluvialis*, dessen Zysten nach Übergießen mit gekochtem Regenwasser sich zur Teilung veranlassen ließen. Nach ihm wurde von vielen anderen Forschern ein gleiches Verhalten auch bei vielen anderen niederen Tieren und Pflanzen immer wieder beobachtet und bestätigt.

Vielfach entstehen derartige Dauerzustände auch ohne Austrocknung, wenn die Lebensverhältnisse in der Flüssigkeit, in der die Organismen leben, ungünstig werden, z. B. infolge einer Anhäufung von Fäulnisstoffen im Wasser. Auch in diesem Falle schreiten die Zysten zu neuer Teilung, wenn die früheren, der Entwicklung günstigen Bedingungen durch einen Wechsel des Wassers wiederhergestellt werden.

Da trotz der vielen Untersuchungen über die Entwicklungsgeschichte der niederen Organismen außer diesen allgemeinen Tatsachen Näheres über die äußeren Bedingungen, durch welche die Weiterentwicklung der Zysten veranlaßt wird, bisher nicht erforscht worden ist, so dürften die folgenden Angaben über meine Ergebnisse in dieser Hinsicht bei *Haemato-coccus pluvialis* (*Protococcus* pl., *Sphaerella* pl.) einiges Interesse verdienen.

Die Produkte, die aus den Dauerzuständen von *Haematococcus* unter günstigen Bedingungen hervorgehen, sind bekanntlich Schwärzellen, die zwei Wimpern besitzen. Ihr Protoplasmaleib ist von einer breiten, aufgequollenen, durchsichtigen Hülle umgeben, in welche feine pseudopodienartige Fortsätze des Protoplasmas hineinragen.

Über den Vorgang der Schwärmerbildung seitens der Zysten möge die Angabe Strasburgers (1878, pag. 9 u. 10) uns hier orientieren:

„Die Schwärmer gehen aus dem Ruhezustande hervor. Die runden, ruhenden Zellen zerfallen hierbei in 2, 4, 8, 16 oder 32 Teile. Hierbei verhält sich . . . die Mutterzelle als ein wahres Sporangium. Die Schwärmer werden nämlich frei, indem die inneren Verdickungsschichten der Mutterzellwand an einer breiten Stelle zu den gallertartig aufgequollenen äußeren hervortreten. In den so gebildeten Sack treten die Schwärmer ein und werden durch Auflösen desselben in dem umgebenden Wasser frei . . . Die leere Haut der Mutterzelle bleibt nach der Entleerung der Schwärmer liegen, sie zeigt die einseitige weite Öffnung. Die Gestalt und Größe der erzeugten Schwärmer hängt von der Zahl und Richtung der erfolgten Teilungen ab.“

Das Material, das ich zu meinen Versuchen verwendete, entnahm ich einem Glasaquarium, das unbedeckt im Freien hell, doch vor direktem Sonnenlicht geschützt stand. Das Aquarium war mit Regen- und Leitungswasser angefüllt, in welchem durch faulende Blätter, durch die Lebens-

tätigkeit vieler Bakterien und anderer Organismen viele Verunreinigungen angehäuft waren. Im Frühling und Sommer 1906 hatte sich in diesem Aquarium *Haematococcus pluvialis* in großer Menge entwickelt. Als ich im Juli 1906 zur Untersuchung der Alge schritt, waren in dem Wasser keine schwärmenden *Haematococcus*-zellen mehr zu finden, dagegen waren die Wände des Aquariums mit großen roten Dauerzysten dieser Alge bedeckt.

Bei der näheren Untersuchung des Einflusses äußerer Bedingungen auf die Schwärmerbildung dieser Zysten kam für die Form meiner Versuchsanstellung einmal der Umstand in Betracht, daß bei einfacher Übertragung der Ruhezellen in wiederholt filtrierte Kulturflüssigkeit, die aus dem Aquarium entnommen war, die Zysten unverändert in ihrem Ruhezustande verharrten. Auch nach vorhergehender mehrtägiger Austrocknung der Zysten ließen sich auf diese Weise keine Schwärmsporen erzielen. Der zweite Punkt, der bei den Versuchen berücksichtigt werden mußte, war die Tatsache, daß anderseits die Schwärmerbildung schon dann eintrat, wenn die Zysten aus dem Wasser des Aquariums in destilliertes Wasser übertragen wurden. Allerdings war die Bildung der Schwärmer auch in diesem Falle nicht so lebhaft, wie sie unter noch besseren Bedingungen, die uns die Versuche lehren werden, vor sich ging. Viele Zysten blieben auch in destilliertem Wasser noch ungeteilt und konnten erst durch intensiver wirkende Mittel zur Entwicklung angeregt werden.

Immerhin konnte ich wegen der genannten Wirkung einer Übertragung in destilliertes Wasser nur dann den Einfluß äußerer Faktoren, der Nährsalze, des Lichtes, der Temperatur usw. beurteilen, wenn ich die äußeren Bedingungen auf Zysten wirken ließ, die sich in derselben Kulturflüssigkeit fanden, in der sie entstanden waren.

Infolgedessen benutzte ich, solange die Kulturflüssigkeit im Aquarium nicht gewechselt wurde, kleine Glasdosen, die mit filtrierter alter Kulturflüssigkeit angefüllt wurden. Alle meine Versuche über die Bedeutung der Nährsalze auf die Schwärmerbildung der Zysten wurden mit derartigen Dosenkulturen angestellt. Später mußte ich, um eine Austrocknung des Aquariums zu vermeiden, das verdunstete Wasser durch Leitungswasser ersetzen. Da nach dieser Veränderung des Aquariumwassers auch dann Schwärmer entstanden, wenn die Zysten in Dosen in die neue Kulturflüssigkeit gebracht wurden, so verfuhr ich in der Weise, daß ich in eine große Anzahl von Dosen Aquariumwasser und Zysten verteilte, und die Dosen dann erst zu den Versuchen verwendete, wenn die entstandenen Schwärmer wieder in den enzytierten

Zustand übergegangen waren, und nachdem ich mich überzeugt hatte, daß nach mehrmaligem Umrühren der Flüssigkeit mit einem Glasstab keine Schwärmer mehr entstanden. Kulturen, wie sie zuletzt beschrieben wurden, verwandte ich zu einigen Versuchen über den Einfluß des Lichtes und der Temperatur auf die Schwärmerbildung.

Bedeutung der Nährsalze.

Die Annahme, daß neben anderen Faktoren vielleicht ein Mangel an anorganischen Nährsalzen die Enzystierung der schwärmenden Hämatokokken in dem Aquarium bedingt haben könnte, veranlaßte mich zu prüfen, ob durch eine Zufuhr von Nährsalzen die Alge zur Aufgabe ihres enzystierten Zustandes und zu neuer Schwärmerbildung sich anregen ließe. Es stellte sich in der Tat heraus, daß Zysten alsbald zur Entwicklung von Schwärfern schreiten, wenn ihnen anorganische Nährsalze dargeboten werden. Besonders lebhaft traten die Schwärmer auf, wenn ich Zysten aus dem Aquarium in verdünnte Knopsche Nährlösung brachte. Einige Beispiele zeigen das:

Am 24. Juli	25. Juli	26. Juli
Ruhende Zysten in		
0,1 KN-Lösung	Viele Teilungen u. Schwärmer	} Alles in 0,5 KN-Lösung
	Teilungen u. Schwärmer, nicht viel	

Die Schwärmerbildung war in der Nährösung bedeutend intensiver, als wenn die Zysten nur in destilliertes Wasser übertragen wurden. Konnte in diesem Fall, wo die Entwicklung der Schwärmsporen in reiner Nährösung stattgefunden hatte, vielleicht die Wirkung der Nährsalze durch den gleichzeitigen Wechsel der Kulturflüssigkeit befördernd beeinflußt sein, so ging aus weiteren Versuchen hervor, daß ein solcher Wechsel durchaus nicht nötig ist, damit die Gegenwart von Nährsalzen die Zysten zur Schwärmerbildung anregt. Ein einfacher Zusatz von Nährsalzen zur alten Kulturflüssigkeit aus dem Aquarium ist bereits ausreichend.

Um dies nachzuweisen, stellte ich mir eine 10 %ige Knop-Lösung her und verdünnte sie, ehe ein Niederschlag ausgefallen war, mit alter Kulturflüssigkeit zu 0,1 %iger Lösung.

Ein Beispiel.

Am 26. Juli	27. Juli	28. Juli
Zysten in derartige Nährsalzlösung	Einige, doch nicht viel bewegliche Schwärmer	Sehr viel Schwärmer. Kultur grünlich rot.

Stets war äußerst lebhafte Schwärmerbildung seitens der Zysten die Reaktion auf einen Zusatz von Nährösung zur Aquariumsflüssigkeit.

Wie bei *Oedogonium pluviale*, so lag auch hier die Frage nahe, ob zur Erreichung dieses Ziels alle Salze der Knopschen Nährösung

zusammen nötig seien, oder ob es genüge, einzelne Salze der Kulturflüssigkeit zuzufügen, um die Bildung der Schwärmsporen zu erzielen. Zur Untersuchung dieser Frage stellte ich mir 0,1 %ige Lösungen aller Komponentensalze der Knop-Lösung in alter filtrierter Aquariumsflüssigkeit her und kombinierte sie miteinander auf verschiedenste Weise. Das Resultat zeigt folgende Tabelle. Ich führe darin auch meine Versuche mit phosphorsaurem und salpetersaurem Natrium mit an.

Zysten am 2. August 1906 in 0,1 %ige Salzlösungen.

In der Kulturflüssigkeit war gelöst	4. August	
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	viele Teilungen u. bewegl. grüne Schwärmer	
KNO_3	viele Schwärmer, grünlich	
MgSO_4	alles ungeteilt, keine Schwärmer	
K_3PO_4		
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 + \text{K}_3\text{PO}_4$	viele grünliche Schwärmer	
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 + \text{MgSO}_4$	" " "	
$\text{KNO}_3 + \text{K}_3\text{PO}_4$	" " "	
$\text{KNO}_3 + \text{MgSO}_4$	" " "	
$\text{K}_3\text{PO}_4 + \text{MgSO}_4$	nichts, keine Schwärmer	am 12. Sept. noch ungeteilt
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 + \text{MgSO}_4 + \text{K}_3\text{PO}_4$	viele grünliche Schwärmer	
$\text{KNO}_3 + \text{MgSO}_4 + \text{K}_3\text{PO}_4$	" " "	
$\text{NaNO}_3 + \text{Na}_3\text{PO}_4$	" " "	
$\text{NaNO}_3 + \text{Na}_3\text{PO}_4 + \text{MgSO}_4$	" " "	
Aquariumwasser	unverändert	

In allen Lösungen, die Nitrate enthielten, hatten die Zellen Zoo- sporen gebildet, während in allen anderen Lösungen (Kulturflüssigkeit + K_3PO_4 und MgSO_4 ohne Nitrate) die Zysten hinsichtlich der Aufgabe ihres Ruhezustandes keine Veränderung zeigten. Demnach scheint den Nitraten eine besondere Bedeutung bei der Schwärmerbildung zuzukommen, da ein einfacher Zusatz von Nitraten ohne andere Veränderung der Flüssigkeit allein die Umwandlung der Zysten in Schwärmer veranlassen kann. Andererseits zeigen die Versuche, daß die übrigen chemischen Elemente, die in der Knopschen Nährlösung außer dem Stickstoff vertreten sind (P, K, Ca Mg S) für den uns hier interessierenden Prozeß gleichgültig sind. Auch nicht in mehrfacher und verschiedener Verbindung miteinander können sie denselben Effekt ausüben wie die Nitrate. Die Bedeutung der Knopschen Nährlösung für die Schwärmerbildung der Haematococcuszysten liegt also in ihrem Gehalt an Nitraten. In den stickstofffreien Lösungen hielten sich die Zysten lebend. Als ich nach einem Monat auch diesen Kulturen einige Tropfen Kalziumnitratlösung zusetzte, trat auch in ihnen lebhafte Schwärmerbildung ein.

Das Minimum des Zusatzes von Nitraten, welches erforderlich ist, um eine Reaktion der Zysten herbeizuführen, habe ich nicht

ganz genau ermittelt. Sicherlich liegt es unter 0,01 % Kalziumnitrat, da noch nach dem Zusatz einer so geringen Menge dieses Salzes zur Aquariumsflüssigkeit auf das Lebhafteste Schwärmer sich entwickelten. Die obere Grenze liegt bei 0,6 % KNO_3 . In einer 0,8 % igen Kaliumnitratlösung traten keine Zoosporen mehr auf.

Auch andere stickstoffhaltige Salze können in derselben Weise wie die Nitrat wirksam sein. Das zeigen zunächst einige Versuche mit Kaliumnitrit. Auffallend hierbei ist, daß die giftige salpetrige Säure, die sich vom Nitrit im ersten Versuch abspaltete, nicht hindernd einwirkte, da die Zoosporenbildung im ersten Versuch mit nicht geringerer Intensität eintrat als im zweiten Versuch, wo der Zusatz von K_2HPO_4 das Auftreten von salpetriger Säure nicht zuließ.

Ruhende Zysten aus dem Aquarium.

Am 6. August in	7. August	8. August
0,1 % ige Lösung von Kaliumnitrat in Kulturflüssigkeit in dieselbe Lösung, die zu gleichen Teilen mit 0,1 % iger K_2HPO_4 -Lösung in Kulturflüssigkeit versetzt ist	eine Anzahl Schwärmer doch nicht sehr viel ebenso	sehr viel Teilungsprodukte, viele grüne Schwärmer, viele ruhig ebenso

Die Frage, ob ich, um Schwärmerbildung zu bewirken, den Stickstoff auch in Form von Ammoniumsalzen geben darf, konnte ich deswegen nicht exakt behandeln, weil ich nicht mit bakterienfreien Kulturen arbeitete und deswegen nicht behaupten kann, daß nicht etwa nitrifizierende Bakterien aus den NH_3 -Verbindungen Nitrat geliefert haben. Nitrat mit Hilfe der Diphenylamin-Schwefelsäureprobe in den Kulturen mit Ammoniumsalzen nachzuweisen, gelang mir jedenfalls nicht. Bei meinen Versuchen im August mit Ammoniumnitrat, -chlorid, -sulfat, -triphosph. und -bitartaricum fand ich nach 2 Tagen fast alle Ruhezellen geteilt in grüne Schwärmer in allen Ammoniumsalzlösungen außer in Ammonium bitartaricum. Andere organische Säuren haben nicht den gleichen hemmenden Einfluß wie die Weinsäure. Als ich Dosenkulturen mit erneuter Kulturflüssigkeit, in denen die anfängliche Schwärmerbildung aufgehört hatte, Ammonium citricum, formicicum, malicum und bitartaricum zusetzte, erhielt ich überall Schwärmer außer in weinsaurem Ammonium. Weinsäure scheint demnach dem Haematococcus weniger zuträglich zu sein als andere organische Säuren. Auch für andere einzellige Chlorophyzeen ist eine ähnliche schädliche Wirkung der weinsauren Salze beobachtet worden. Nach Kossowitzsch sollen Stichococcus und Cystococcus durch weinsaures Ammonium geschädigt werden.

In allen Fällen, wo infolge einer Zuführung von Nährsalzen, speziell also Stickstoffsalzen, Schwärmer gebildet wurden, traten meist schon nach einem Tage Schwärmer auf. Nach 2 Tagen war in der Regel schon die höchste Intensität des Prozesses erreicht.

Wie lange die Bildung und Bewegung der Schwärmer fortdauert, hängt von vielen Umständen ab, die oft nicht zu kontrollieren sind. Von großem Einfluß sind in dieser Hinsicht die Luft- und Temperaturverhältnisse neben anderen Faktoren. In gewöhnlichen Zimmerkulturen konnte ich noch nach 14 Tagen und später nach dem ersten Auftreten der Schwärmer immer noch bewegliche Hämatokokken finden. Häufig kommen die Schwärmer schon früher zur Ruhe undenzystieren sich wieder in einer an den Protoplasmaleib eng anschließenden Membran.

Eine auffallende Erscheinung sei noch erwähnt. Unter allen bisher genannten Bedingungen ging der Bildung der Schwärmer eine Auflösung des Karotins in den Zysten voraus. Auch Cohn (1850, pag. 692) berichtet über die gleiche Beobachtung: „Der Inhalt kann von der Peripherie aus sich in Grün umwandeln, so daß sich zuerst ein bronzefarbener Rand bildet, der allmählich in Grün übergeht und das Rot zuletzt ganz von der Peripherie verdrängt. Weiter geht das Grün in der Regel nicht in dieser Generation, indem schon früher Teilung eintritt.“ Ganz besonders stark war die Auflösung des Karotins nach dem Zusatz von Nährsalzen. Oft erschienen infolgedessen die Kulturen nicht mehr rot, sondern vollständig olivgrün. Ein vollständiges Verschwinden des Karotins konnte ich nicht beobachten. Stets erfolgte nur am Rande der Zysten eine Ergrünung, aber das Zentrum auch der ungeteilten Zysten blieb rot.

Einfluß der Lichtintensität.

Was den Einfluß des Lichtes auf die Schwärmerbildung seitens der Haematococcuszysten angeht, so müssen wir bei der Beurteilung der Wirkungen von Licht und Dunkelheit auch hier wie bei *Oedogonium* unterscheiden, ob diese Faktoren als allgemeine äußere Bedingungen zu berücksichtigen sind, wenn andere äußere Reize die Schwärmerbildung veranlassen, oder ob unter Umständen ein einfacher Wechsel der Lichtintensität als spezielle äußere Bedingung den Prozeß der Schwärmerbildung veranlaßt.

Als allgemeine Bedingungen kommen Licht und Dunkelheit, wenn es sich um die Schwärmerbildung aus Zysten handelt, die sich vorher im Hellen aufgehalten haben, nur bis zu einem bestimmten Grade in Betracht. Unter den vorhin angeführten Bedingungen (Über-

tragung in destilliertes Wasser und Zuführung von stickstoffhaltigen Substanzen) kann die Zoosporenbildung im Hellen und auch im Dunkeln erfolgen. Aber das Licht spielt hierbei doch insofern eine Rolle, als es die Intensität des Prozesses wesentlich erhöht. Während in den Versuchen im Licht, wenn ich Stickstoff in geeigneter Form gab, fast alle Ruhezellen zur Teilung schritten, trat im Dunkeln in denselben Salzlösungen die Schwärmerbildung nur bei manchen, oft allerdings sehr vielen Zysten ein, aber stets blieb doch noch eine große Anzahl Zysten im Dunkeln ungeteilt. Und entsprechend verhielten sich auch die Kulturen von Zysten in destilliertem Wasser.

Dieser im Verhältnis zu der Wirkung des Lichtes gewissermaßen etwas hemmende Einfluß der Dunkelheit läßt schon vermuten, daß der Dunkelheit erst recht keine Bedeutung als spezielle äußere Bedingung in dieser Hinsicht zukommt. In der Tat sah ich niemals in den vielen Kulturen, in denen ich Zysten in der Aquariumsflüssigkeit verdunkelte, daß Zoosporenbildung eingetreten wäre. Ebenso konnte ich auch eine Auflösung des Karotins allein infolge von Verdunkelung ohne Zusatz von stickstoffhaltigen Salzen oder ohne Veränderung der Kulturflüssigkeit nicht konstatieren. In Kulturen mit Aquariumwasser, die etwa $2\frac{1}{2}$ Monate (vom 6. November 1906 bis 24. Januar 1907) im Dunkeln gestanden hatten, waren die Zysten vollkommen rot geblieben. Das ist an sich nichts Auffallendes, da auch von der ebenfalls Karotin enthaltenden Alge *Trentepohlia* bekannt ist, daß eine bloße Verdunkelung nicht genügt, um allmählich ein Verschwinden des Karotins herbeizuführen. Aber die Tatsache, daß das Karotin der Haemato-coccuszysten im Dunkeln nicht verschwindet, sei im Hinblick auf die Angaben Cohns (1850, pag. 720) doch hervorgehoben, nach denen Schwärmer beim Aufenthalt im Dunkeln vollständig verbleichen.

Die Auflösung des Karotins der Schwärmer im Dunkeln ist keine Erscheinung, die in lebenden Schwärmern vor sich geht. Als ich Schwärmer, die im Licht im Wasser entstanden waren, in einer Schale bei 25° ins Dunkle brachte, lagen bereits nach 24 Stunden alle Zellen tot am Boden der Schale. Die Auflösung des Karotins war erst am Tage darauf eingetreten. Der Gehalt der Zysten an Stärke¹⁾ nimmt

1) Die Angaben Cohns (1850, pag. 645), daß das Karotin der Hämatococcuszellen sich in Jodlösungen blau färbe wie Stärke, muß ich entschieden bestreiten. Das Karotin nimmt in Jodkalium und in Chloraljod schmutzig-grüne Färbung an. Daneben finden sich in den Zysten zahlreiche weiße Körner, die durch Jod lebhaft blau tingiert werden, wie typische Stärke. Ich habe die allmählich eintretende Färbung wiederholt unter dem Mikroskop an zerdrückten Zysten verfolgt.

im Dunkeln etwas ab. Wenn ich auch nach dreimonatlicher Verdunkelung nie ganz stärkefreie Zysten beobachten konnte, so fiel doch bei einem Vergleich der Zysten, die im Hellen geblieben waren, mit solchen, die verdunkelt worden waren, sofort der größere Stärkegehalt der belichteten Zysten gegenüber dem der verdunkelten Zysten in die Augen.

Von besonderem Interesse ist das Verhalten der Zysten dem Licht gegenüber, wenn die Zysten eine Zeitlang verdunkelt worden sind. Bringt man die Zysten nach vorangehender Verdunkelung ins Licht, so veranlaßt diese Steigerung der Lichtintensität, daß die Zysten sich zur Entwicklung anschicken und Schwärmer produzieren.

Zuerst beobachtete ich diese Erscheinung, als ich Mitte September 1906 alle Kulturen, die ich im August zur Untersuchung der Bedeutung der Nährsalze im Dunkeln angesetzt hatte, und in denen die Schwärmerbildung nicht eingetreten war oder wieder aufgehört hatte, hell stellte. Nach 2 Tagen waren in allen diesen Kulturen Schwärmer zu finden, auch in denen, die keine Nitrate enthielten. Ich habe den Versuch vielfach wiederholt, indem ich Dosenkulturen, in denen die anfängliche Schwärmerbildung im Dunkeln aufgehört hatte und in denen sich nur noch Zysten befanden, in helles Licht setzte. Stets trat in diesen Kulturen schon nach einem Tage, mindestens aber nach 2 Tagen Sporenbildung ein, während in den Kontrollkulturen, die neben den hellstehenden bei gleicher Temperatur verdunkelt waren, die Zysten in ihrem ruhenden Zustande verharrten. Auch nach $2\frac{1}{2}$ Monate andauernder Verdunkelung hatten die Zysten ihre Fähigkeit zur Weiterentwicklung nicht verloren.

Interessant wäre es gewesen, wenn ich hätte feststellen können, wie lange der Aufenthalt der Zysten im Dunkeln gedauert haben muß, damit infolge erneuter Belichtung die Schwärmerbildung veranlaßt werden kann. Die Gründe, weshalb mir meine Versuche, die ich zur Untersuchung dieser Frage anstellte, nicht gelangen, will ich später erörtern.

Da bei der Bedeutung des Lichtes für die Assimilation der Pflanzen anzunehmen ist, daß die Wirkung der Belichtung auf die vorher verdunkelten Haematococcuszysten darin besteht, daß in den Zysten eine Neubildung organischer Substanzen Platz greift, so lag die Frage nahe, ob vielleicht eine Zuführung von organischen Stoffen einen gleichen Effekt wie das Licht ausüben und so gewissermaßen das Licht ersetzen könne. Mehrmals wiederholte Versuche mit Rohrzucker und Traubenzucker sprechen zugunsten der genannten Annahme. In alten Dunkelkulturen ließ sich nach Zusatz dieser beiden Stoffe äußerst lebhafte

Schwärmerbildung auch im Dunkeln erreichen. Nur einige der vielen Beispiele seien angeführt. Am 22. Oktober wurde zu einer ca. 10 ccm Flüssigkeit enthaltenden Dosenkultur, die seit dem 1. Oktober im Dunkeln stand und die nur Zysten enthielt, 1 ccm 25 %ige Rohrzuckerlösung zugesetzt, so daß also die Kulturflüssigkeit etwa 2,5 % Rohrzucker enthielt. Am 23. Oktober waren Schwärmer gebildet, in einer Kontrollkultur ohne Zucker nicht. Zu je einer Dosenkultur, die seit dem 22. Oktober im Dunkeln standen, wurde am 8. November in derselben Weise Rohr- bzw. Traubenzuckerlösung zugesetzt. Am 12. November war im Dunkeln in beiden Kulturen intensive Zoosporenbildung eingetreten. Sehr viele Wiederholungen der Versuche bestätigten die Beobachtung immer wieder.

Bei den früher erwähnten Versuchen über den Einfluß der anorganischen Salze waren stets Zysten zur Verwendung gekommen, die vor der Versuchsanstellung dem Licht ausgesetzt waren. Da diesen Zysten infolgedessen Gelegenheit gegeben war, alle organischen Stoffe, die bei der Atmung verbraucht wurden, sofort durch Assimilation wieder zu ersetzen, so waren sicherlich zu Beginn der Versuche organische Reservestoffe in ihnen in genügender Menge vorhanden. In diesem Falle wirkte, wie wir gesehen haben, ein Zusatz von stickstoffhaltigen Salzen dahin, daß diese Zysten Schwärmer entwickelten.

Anders liegen die Verhältnisse, wenn die Zysten vorher verdunkelt waren. Für Stoffe, die bei der im Dunkeln fortdauernden Atmung oxydiert wurden, konnte wegen des Mangels an Licht ein Ersatz durch Neubildung nicht wieder geschafft werden. Infolgedessen mußte sich im Dunkeln mit der Zeit ein Mangel an irgend welchen bestimmten organischen Stoffen fühlbar machen. Die zuletzt angeführten Versuche lehren uns, daß unter diesen Umständen derselbe Effekt, die Schwärmerbildung, wie vorhin durch einen Zusatz von Stickstoffsalzen, jetzt dadurch erreicht wurde, daß entweder durch Steigerung der Lichtintensität die Assimilation gefördert oder durch direkte Zuführung von Zucker der Mangel an organischen Stoffen beseitigt wurde.

Wurden den verdunkelten Zysten andererseits Nitrate, also anorganische Salze, zur Verfügung gestellt, so blieb die Wirkung, die hiernach bei vorher assimilierenden Zysten sich bemerkbar gemacht haben würde, aus. Nur wenn die Verdunkelung noch nicht allzulange (14 Tage etwa) gewährt hatte, traten auch im Dunkeln nach Zusatz $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ einige Schwärmer auf. Aber die Zoosporenbildung war in diesem Fall doch äußerst gering besonders im Vergleich zu der außerordentlich lebhaften Entwicklung in den Kulturen, denen im Dunkeln

Rohrzucker oder Traubenzucker zugesetzt wurde. Vermutlich besaßen noch nach 14tägiger Verdunkelung noch einige Dauerzellen genügende Nahrungsstoffe, um auf den Reiz, den die Nitrate ausübten, reagieren zu können. Waren die Zysten länger im Dunkeln geblieben, so traten in stickstoffhaltigen Medien im Dunkeln keine Schwärmer mehr auf.

Daß der Effekt, den Rohrzucker und Traubenzucker auf die verdunkelten Zysten ausübten, keinesfalls eine Folge der Wasserentziehung aus den Zysten war, wie sie vielleicht durch die Konzentrationserhöhung des Mediums bedingt wurde, geht aus den hinsichtlich der Schwärmerbildung negativen Resultaten nach Zusatz von Nitraten zu Dunkelkuluren hervor. Ein besonderer Versuch, in dem ich durch Chlor-natrium die gleichen osmotischen Verhältnisse im Außenmedium zu realisieren suchte, wie nach Zusatz von Rohrzucker, lieferte eine weitere Bestätigung hierfür.

Was die Auflösung des Carotins angeht, wenn vorher verdunkelte Zysten zur Schwärmerbildung schreiten, so fielen die Beobachtungen recht verschieden aus. Vielfach fand ich, daß bei einfacher Beleuchtung die Zellen nicht ergrünten, und daß die entstandenen Schwärmer vollständig rot aussahen. In anderen Fällen war eine schwache Auflösung des Carotins doch eingetreten. Ebenso unregelmäßig war die Ergrünung nach Zusatz von Rohr- und Traubenzucker.

Einfluß der Temperatur.

Auch der Einfluß der Temperatur ist für die Schwärmerbildung der Haematococcuszysten von Bedeutung.

Erfolgen kann die Bildung der Schwärmer noch in sehr niedriger Temperatur. In Kulturen, die ich am 29. November 1906 auf dem Balkon im Freien ansetzte, konnte ich am 7. Dezember Schwärmer beobachten, als die Temperatur nachts schon fast bis zum Nullpunkt gefallen war. Wie bei Vaucheria (Klebs 1896, pag. 44) und bei Oedogonium pluviale, so wirkt auch bei Haematococcus niedrige Temperatur dahin, daß die Schwärmerbildung erst später auftritt, als wie sie bei sonst gleichen Verhältnissen in höherer Temperatur eingetreten wäre. So wurden in den Kulturen im November im Freien erst nach 8 Tagen die ersten Schwärmer beobachtet, während in entsprechenden Kulturen im Südfenster bei Zimmertemperatur bereits nach 3 Tagen die Zoosporen aufs lebhafteste herumschwärmt.

Frost schadet den Zysten nichts. In zwei Kulturen auf dem Balkon war Mitte Dezember die ganze Kulturflüssigkeit durch und durch gefroren. Als ich die Kulturen allmählich auftaute und darauf ins Süd-

fenster bei Zimmertemperatur stellte, war bereits am anderen Tage lebhafteste Schwärmerbildung eingetreten. Die Schwärmer mußten infolge der Temperaturerhöhung neu gebildet sein, da ich am Tage, ehe in den Kulturen Eisbildung eintrat, keinen Schwärmer darin fand. Aus diesen Versuchen möchte ich noch nicht darauf schließen, daß unter allen Umständen eine Überführung der Zysten aus niederer in höhere Temperatur Schwärmerbildung veranlaßt. Denn nach allen Erfahrungen ist anzunehmen, daß in den erwähnten Kulturen auch in niederer Temperatur mit der Zeit die Sporenbildung erfolgt wäre, wenn nicht die Eisbildung infolge des Frostes den Vorgang sistiert hätte.

Das Temperaturmaximum für die Schwärmerbildung muß etwa bei 27°C liegen. In 26° konnten Schwärmer noch entstehen, aber nicht mehr in lebhafter Weise. Im Thermostaten bei 30° fand in meinen Kulturen keine Schwärmerbildung mehr statt, während sie in Kontrollkulturen bei Zimmertemperatur eingetreten war. Ihre Fähigkeit, Zoosporen zu bilden, verlieren die Zysten in einer Temperatur von $30-34^{\circ}$ nicht. Der Eintritt der Zoosporenbildung ist bei dieser Temperatur nur gehemmt. Sobald Wasser- oder Nährlösungskulturen, in denen bei niedriger Temperatur Zoosporenbildung eingetreten wäre, aus einer Temperatur von $33-34^{\circ}\text{C}$ wieder in Zimmertemperatur gebracht werden, so erfolgt Schwärmerbildung. Sehr viele Versuche bestätigen dies. Erst bei längerer Einwirkung höherer Temperatur greifen Veränderungen in den Zellen Platz, so daß dann bei einfacher Temperaturerniedrigung keine Schwärmer mehr gebildet werden können. Bei Kulturen, die ich am 12. Dezember in Wasser- und Nährlösungen in höhere Temperatur ($33-34^{\circ}$) anstellte, war dieser Zustand nach 8 Tagen erreicht. Bei einer gleichen Versuchsreihe, die ich am 21. Dezember in den Thermostaten stellte, beobachtete ich sogar noch nach 16 Tagen bei einfacher Temperaturerniedrigung auf Zimmertemperatur ($15-20^{\circ}$) Schwärmer.

Später genügte eine einfache Verminderung der Temperatur nicht mehr, um die Schwärmerbildung zu veranlassen. Wohl aber traten noch nach 16 tägiger Kultur bei 34°C Schwärmer auf, wenn die Kulturen bei Zimmertemperatur belichtet wurden und auch in den Kulturen, in denen im Dunkeln nach Überführung in Zimmertemperatur keine Schwärmer mehr entstanden waren, konnte dieser Prozeß durch Belichtung veranlaßt werden. Bei allzu langem Aufenthalt der Zysten in höherer Temperatur gelingt es schließlich dann auch nicht mehr im Licht bei gleichzeitiger Temperaturerniedrigung den Prozeß anzuregen. Nach meinen Versuchen schädigt eine länger als 32 Tage dauernde Einwirkung von 34°C die Zysten so, daß sie nicht mehr imstande sind, auf die genannten Mittel hier zu reagieren.

Schwärmerbildung in destilliertem Wasser.

Das Auftreten der Schwärmer in dem Fall, daß Zysten aus alter Aquariumsflüssigkeit in destilliertes Wasser übertragen wurden, bedarf noch näherer Erörterung. Da das alte Aquariumwasser lange Zeit gestanden hatte und infolgedessen nur wenig Luft und Sauerstoff enthielt, so wäre es denkbar, daß vielleicht der Anlaß für die Sporenbildung in dem größeren Reichtum des destillierten Wassers an Luft zu suchen ist. Das scheint mir jedoch schon deshalb nicht der Fall zu sein, weil auch die Zysten in der Kulturflüssigkeit bei der Verteilung in die Dosen mit neuem Sauerstoff in Berührung kamen. Die Kulturflüssigkeit wurde mehrfach durch ein doppeltes Filter und durch Watte filtriert. Bei dieser Prozedur erfolgte die Filtration fast tropfenweise, so daß sicherlich eine ganze Menge Luft von der Kulturflüssigkeit aufgenommen wurde. Ein besonderer Versuch bestätigte meine Annahme von der Unwirksamkeit einer bloßen Sauerstoffzufuhr. Durch eine Kultur, die mit Aquariumsflüssigkeit am 1. Oktober angesetzt wurde, und in der bald die geringe anfängliche Schwärmerbildung aufgehört hatte, ließ ich am 16. Oktober etwa 18 Stunden lang tüchtig Luft durchsaugen. Am 18. Oktober fand ich keine einzige bewegliche Schwärmspore; alle Zysten waren unverändert.

Ich möchte annehmen, daß die Verhältnisse hier ähnlich liegen, wie ich sie vorhin bei *Oedogonium pluviale* auseinandergesetzt habe. Vielleicht schreiten die Zysten nach der Übertragung in destilliertes Wasser deshalb zur Teilung, weil gewisse hemmende Stoffe, die sich in dem Aquariumwasser infolge der Entwicklung von Bakterien und anderen Organismen angesammelt haben, aus ihrer Umgebung entfernt werden. Solange die Zysten sich im Aquariumwasser befinden, machen diese hemmenden Stoffe eine selbständige Weiterentwicklung, ohne das andere äußere Mittel zur Anwendung kommen, unmöglich. Nach der Übertragung in destilliertes Wasser steht der Weiterentwicklung der Zysten nichts mehr im Wege, die Lebensprozesse werden unter den neuen Lebensbedingungen wieder aufgenommen, und dadurch werden im Innern der Zysten Verhältnisse realisiert, die eine Teilung und eine Verwandlung des Zysteninhaltes in Schwärmer bedingen.

Eine nur geringe Verdünnung des alten Aquariumwassers durch destilliertes Wasser genügte noch nicht, um Zoosporenbildung zu bewirken. Wenn ich Dosenkulturen, die 10 ccm alte Kulturflüssigkeit enthielten, 1 ccm destilliertes Wasser zusetzte, erhielt ich niemals Schwärmer. Ich hebe das deshalb hier besonders hervor, um dem Einwande zu begegnen, daß in den Fällen, wo Schwärmer nach Zusatz

von $\frac{1}{2}$ —1 ccm Nährsalz- oder Zuckerlösung auftraten, die Verdünnung der alten Kulturflüssigkeit und nicht die Steigerung des Nährsalz- oder Zuckergehaltes wirksam gewesen wären.

Andrerseits kann durch besondere äußere Mittel (Zusatz von Nitraten, Beleuchtung) erreicht werden, daß die Stoffwechselprozesse in den Zysten in dem Maße gefördert werden, daß die hindernde Wirkung der hemmenden Substanzen im Außenmedium nicht zur Geltung kommt.

Werden diese Hemmungsprodukte in zu großer Menge angehäuft, so ist es schließlich auch nicht mehr möglich, durch besondere Mittel die Schwärmerbildung in der alten Kulturflüssigkeit zu veranlassen. Erst bei gleichzeitiger Übertragung in neues Wasser kann unter diesen Umständen die Weiterentwicklung der Zysten vor sich gehen. Das lehrte das Verhalten der Kulturen, die ich in der Hoffnung ansetzte, mit ihnen die Dauer der Verdunkelung feststellen zu können, die nötig ist, um Zysten in den Stand zu setzen durch Schwärmerbildung auf den Reiz erneuter Beleuchtung zu reagieren. Anfang November 1906 hatte ich Zysten in erneuertem Aquariumwasser in Dosen verteilt und die Dosen ins Helle gesetzt. Da ich die kleinen Kulturen zu lange (über 2 Monate) stehen ließ, hatten sich reichlich Bakterien in dem Wasser entwickelt. Als ich die Kulturen Anfang Januar 1907 verdunkelte, gelang es mir auch nach dreiwöchentlicher Verdunkelung nicht, durch einfache neue Belichtung die Zysten zur Sporenbildung zu bringen. Erst als ich gleichzeitig die Zysten aus dem Dunkeln ins Licht und in destilliertes Wasser brachte, reagierten sie in der gewünschten Weise. Eine einfache Übertragung der Zysten in destilliertes Wasser genügte nach der langen Aushungerung der Zysten im Dunkeln nicht mehr, um ohne Mitwirkung des Lichtes die Schwärmerentwicklung herbeizuführen. Andrerseits wurden aber auch im Dunkeln nach Übertragung der Zysten in destilliertes Wasser Zoosporen gebildet, wenn die Zysten vorher einige Tage in der alten verunreinigten Kulturflüssigkeit im Hellen gestanden hatten. Nach der genügenden Kräftigung der Zysten infolge erneuter Belichtung genügte in diesem Fall die Entfernung der hemmenden Stoffe aus der Umgebung.

Die wichtigsten Resultate, die ich hinsichtlich des Einflusses der äußeren Bedingungen auf die Schwärmerbildung der Zysten von *Haematococcus pluvialis* erhalten habe, lassen sich folgendermaßen kurz zusammenfassen.

Wenn die Zellen von *Haematococcus pluvialis* sich in ausgefaultem Wasserenzystisiert haben, so können die Zysten zur Produktion von Schwärmsporen entweder durch einen Zusatz stickstoffhaltiger Salze

(Nitrate, Nitrite, Ammoniumsalze) zur alten Flüssigkeit oder durch Übertragung in destilliertes Wasser veranlaßt werden.

Werden die Zysten eine Zeitlang verdunkelt, so tritt die Schwärmerbildung nach erneuter Belichtung der Zysten ein. Die Wirkung des Lichtes läßt sich in diesem Fall durch Zuführung organischer Substanzen, wie Rohrzucker und Traubenzucker, ersetzen.

Zusatz stickstoffhaltiger Salze hat bei lange verdunkelten Zysten nicht mehr denselben Effekt wie bei Zysten, welche sich im Hellen aufgehalten haben. Wenn die Schwärmerbildung durch Frost oder höhere Temperatur gehemmt wird, so kann in einem Fall nach Steigerung, im anderen Fall nach Verminderung der Temperatur die Sporenbildung erfolgen. Das Auftreten der Schwärmer nach Übertragung der Zysten aus altem Wasser in destilliertes Wasser hat seinen Grund vermutlich in der Entfernung gewisser hemmender Stoffe aus der Umgebung der Zysten und nicht in der Zuführung von Luft zu den Zysten.

Allgemeine Betrachtungen.

Die Hauptfrage, um die es sich bei der Untersuchung in erster Linie handelte, die Frage danach, ob die Bedeutung der anorganischen Nährsalze für die Zoosporenbildung auf den für die Ernährung der Algen wichtigen chemischen Eigenschaften der Salze beruhe, oder ob die Salze bloß als osmotisch wirksame Stoffe für die Zoosporenbildung in Betracht kommen, ist bis zu einem bestimmten Grade wenigstens für zwei Algen, *Oedogonium pluviale* und *Haematococcus pluvialis*, gelöst worden.

Wenn wir sehen, daß nach Veränderungen des Nährsalzgehaltes im umgebenden Medium bei den beiden genannten Algen Zoosporen entstehen, so haben wir es dabei vermutlich nicht mit den Wirkungen rein physikalischer Agentien zu tun. Wenigstens machen es die Experimente, die ich in den einzelnen Fällen zur Analyse des Prozesses angestellt habe, sehr wahrscheinlich, daß vielmehr die Veränderungen in der chemischen Zusammensetzung des Mediums, wie sie bei Anwendung der genannten Mittel realisiert wurden, als die äußere Veranlassung der Zoosporenbildung angesehen werden müssen. Keinesfalls sind zunächst Änderungen im osmotischen Druck des Mediums die wesentlichen Faktoren, wenn einmal die Zysten von *Hämatococcus* und die im destillierten Wasser kultivierten Ödgonien durch Steigerung des Nährsalzgehaltes und andererseits die Odgonien, die in Knopscher Nährlösung erzogen sind, durch eine Verminderung des Salzgehaltes zur Zoosporenbildung veranlaßt werden. Im ersten Falle ist es durch-

aus nicht gleichgültig, durch welche Nährsalze die Steigerung des Salzgehaltes herbeigeführt wird. Die Schwärmerbildung der *Hämatococcus*-zysten vermag nur dann einzutreten, wenn den Zystenzellen Stickstoffsalze zur Verfügung gestellt werden. Steigerung im Gehalt an Phosphaten oder an Magnesiumsulfat sind hinsichtlich der Schwärmerbildung bei diesen Zysten ohne Effekt. Anders bei *Oedogonium pluviale*. Bei dieser Alge kommt es vermutlich nur darauf an, daß die stärkereichen Ödgonien in ein Medium gebracht werden, in dem ihnen Magnesiumsulfat in Verbindung mit Kalium- und Kalziumsalzen geboten wird. In Lösungen anderer Substanzen, wie Rohrzucker, Chlornatrium, Natriumphosphat, Natriumnitrat, Kaliumphosphat usw., bei deren Anwendung dieselben osmotischen Verhältnisse im Außenmedium realisiert wurden, bildeten bei meinen Versuchen Fäden von *Oedogonium pluviale*, welche in destilliertem Wasser kultiviert worden waren, keine Zoosporen.

Dementsprechend brauchte auch die Entziehung der Nährsalze im anderen Fall bei *Oedogonium pluviale* nicht von Veränderungen im osmotischen Druck des umgebenden Mediums begleitet zu sein. Eine Entfernung der Nitrate und Phosphate genügte zur Erregung des Prozesses, auch dann, wenn der Gehalt der Nährlösung an den übrigen Salzen so gesteigert wurde, daß der osmotische Druck der nitrat- und phosphatfreien Lösung derselbe war wie in der ursprünglichen Normallösung.

Die Bedeutung der Nährsalze für die Zoosporenbildung bei *Haematococcus pluvialis* und bei *Oedogonium pluviale* ist demnach in ihren chemischen Eigenschaften begründet, die allein schon hinreichen, um auch ohne gleichzeitige Änderungen im osmotischen Außendruck den uns interessierenden Prozeß zu veranlassen.

Es ist anzunehmen, daß das Gesagte im wesentlichen auch für andere Algen gilt, die auf Veränderungen im Nährsalzgehalt der Umgebung in ähnlicher Weise reagieren.

Wie ich bereits früher hervorgehoben habe, ist es in den Fällen, wo nach den Angaben von Klebs bei *Oedogonium capillare* und *Vaucheria clavata* eine Steigerung des Nährsalzgehaltes der Umgebung die Zoosporenbildung veranlaßt, notwendig, daß die Versuche im Licht angestellt werden. Da die Algen im Dunkeln unter sonst gleichen Verhältnissen keine Schwärmer entwickeln, müssen wir annehmen, daß auch hier in einem Wechsel der Ernährungsverhältnisse im Außenmedium die Veranlassung zur Zoosporenbildung, die Bedeutung der Nährsalze also in ihren chemischen Eigenschaften zu suchen ist. Andrerseits sehen wir aus der Notwendigkeit der Gegenwart von Licht, daß die

Wirkungsweise der Nährsalze auf diese zuletzt genannten Algen anderer Art sein muß als bei *Oedogonium pluviale* und *Haematococcus*, bei denen eine Steigerung der Nährsalze auch im Dunkeln zur Zoosporenbildung die Anregung geben kann.

Ich habe bereits erörtert, daß auch die Entfernung der anorganischen Salze aus der Umgebung für andere Algen in ähnlicher Weise wie bei den von mir untersuchten Formen insofern wirksam sein könnte, als bestimmte chemische Substanzen den Algen entzogen werden. Dafür, daß die Entziehung bestimmter einzelner Komponenten der Nährlösung genügt, um Zoosporenbildung auszulösen, stellt *Oedogonium pluviale* das einzige bisher einigermaßen sicher erforschte Beispiel dar.

Es ist mit Sicherheit anzunehmen und wird bereits durch gelegentliche Beobachtungen anderer Autoren wahrscheinlich gemacht, daß auch bei anderen Algenformen sich ähnliche Resultate werden nachweisen lassen. So gibt Benecke (1898, pag. 89) an, daß *Vaucheria*-Keimlinge durch Entziehung der Nitrate bei Gegenwart von Phosphaten zur Bildung von Geschlechtsorganen veranlaßt werden konnten. Ferner tritt nach Benecke bei *Mougeotia glyptosperma* d. By und *Staurospermum viride* Kg. Kopulation bei Kultur in stickstofffreien Lösungen ein. Leider stand mir geeignetes Material nicht in hinreichender Menge zur Verfügung, als daß ich auch bei anderen Algen die Frage hätte eingehend prüfen können. Nur einige Beobachtungen möchte ich an dieser Stelle mitteilen, die ich gelegentlich an *Vaucheria repens* machte. Als ich Teile eines *Vaucheria*-Rasens, der bei mäßigem Licht in 0,5 % iger Knopscher Nährlösung kultiviert war, in destilliertes Wasser, in 0,5 % ige phosphorfreie (B) Lösung und 0,5 % ige stickstofffreie (A) Lösung und zur Kontrolle in Knopsche Nährlösung überführte, ohne die Lichtintensität zu vermindern, konnte ich in dem destillierten Wasser und in der phosphorfreien Lösung Zoosporen beobachten, nicht aber in der Nährlösung und in der stickstofffreien Lösung. Nach einigen Tagen teilte ich den Rasen, der in stickstofffreie Lösung übertragen war, und brachte ihn in phosphorfreie Lösung. Wieder wurden in der zuletzt genannten Lösung Zoosporen gebildet. Die Versuche wurden mit dem Rest des *Vaucheria*-rasens mit demselben Resultat wiederholt. Demnach scheint es zu genügen, um bei *Vaucheria repens* Zoosporenbildung zu veranlassen, der in Nährlösung kultivierten Alge den Phosphor zu entziehen, ohne daß der Druck der Lösung vermindert zu werden braucht. Stickstoffentzug scheint nicht von gleicher Wirkung zu sein. Sollte sich das Resultat bestätigen, so hätten wir mit Rücksicht auf die vorhin zitierte Angabe Beneckes das Resultat, daß die Entfernung des Phosphors die

die ungeschlechtliche, die des Stickstoffs die geschlechtliche Fortpflanzung von *Vaucheria repens* veranlaßt. Meine Versuche sind insofern nicht exakt, als der *Vaucheria*-Rasen nicht ganz rein war. Es war nicht möglich, die anhaftenden Erdteilchen zu entfernen, ohne die Fäden stark zu verletzen.

Noch in einer weiteren Hinsicht scheinen mir meine Ergebnisse über die Bedeutung der Nährsalze einiges Interesse zu verdienen. Es ist bisher nur in wenigen Fällen an pflanzlichen Objekten beobachtet worden, daß dann, wenn der Gehalt an bestimmten Nährsalzen, die für das gesamte Leben der Pflanzen von Bedeutung und unentbehrlich sind, im umgebenden Medium gesteigert oder vermindert wird, unter Umständen bestimmte formative Effekte ausgelöst werden können.

Auf die Angaben Beneckes, daß bei einem Mangel an Stickstoff die geschlechtliche Fortpflanzung bei gewissen Algen befördert wird, habe ich hingewiesen. Ein Mangel an Phosphaten übt nicht die gleiche Wirkung aus. Bekannt ist ferner auch das „Etiollement aus Stickstoffhunger“, die Erscheinung, daß bei einigen niederen Pflanzen Wachstumsvorgänge ausgelöst werden, wenn sich ein Mangel an Stickstoffsalzen in der Umgebung fühlbar macht. Benecke beobachtete, daß Algen (*Vaucheria*, *Cladophora*, *Conjugaten*) in stickstofffreien Lösungen ein größeres Längenwachstum erfuhren, als in normalen Nährösungen. Auch bei Brutknospen von *Lunaria* und Thallusstücken von *Riccia* wurde das Wachstum gefördert, wenn Stickstoff nicht vorhanden war. Die Erscheinung, daß nur bestimmte Teile der Pflanzen durch eine mangelhafte Stickstoffernährung zu besonderen Wachstumsvorgängen angeregt werden, haben wir vor uns, wenn nach den Beobachtungen Beneckes Lebermoose in stickstofffreien Lösungen ungewöhnlich lange Rhizoiden ausbilden. Neuerdings fand Schoene (1906), daß auch bei der Keimung der Sporen von *Funaria* in stickstoff- und phosphorfreien Nährösungen das Wachstum der Rhizoiden im Verhältnis zu ihrer normalen Ausbildung gesteigert wurde.

Wurde in allen diesen Fällen von Stickstoffetiollement ein normaler Lebensprozeß in einer für die Pflanze anormalen Weise gefördert, so lehren meine Versuche mit *Oedogonium pluviale* und ebenso auch Beneckes Angaben über die geschlechtliche Fortpflanzung, daß unter Umständen auch normale Lebensvorgänge, wie die Zoosporenbildung oder die geschlechtliche Fortpflanzung, infolge einer Verminderung der Ernährung durch bestimmte Nährsalze eintreten können. Entziehe ich den in der Knopschen Nährösung kultivierten Ödgonien die für das

Leben der Alge unentbehrlichen Stickstoff- und Phosphorsalze, so erfolgt auf diesen Wechsel in der Ernährung hin die Zoosporenbildung.

Andererseits zeigen meine Versuche, daß unter bestimmten Bedingungen auch eine Steigerung der allgemein für das Leben der Pflanzen wichtigen Nährsalze, ebenfalls eine normale formative Reaktion seitens der Algen veranlassen kann. Die Zysten von *Hämatococcus* ließen sich, wie wir gesehen haben durch Stickstoffsalze, *Oedogonium pluviale* durch Magnesiumsulfat in Verbindung mit Kalium- und Kalziumsalzen zur Entwicklung von Schwärmer-Sporen veranlassen. Also in beiden Fällen war die äußere Veranlassung eine Vermehrung von Salzen im Außenmedium, die für die normalen und vegetativen Lebensprozesse der beiden Algen unbedingt notwendig sind. Auch in dieser Hinsicht sind bereits einige Beobachtungen bekannt, aus denen hervorgeht, daß bestimmte Gestaltungsprozesse durch die Gegenwart bestimmter Nährsalze veranlaßt werden können. Klebs beobachtete bei *Saprolegnia mixta*, daß unter sonst günstigen Bedingungen die Bildung von Antheridien durch den Zusatz von Phosphaten zum Nährsubstrat des Pilzes in hohem Grade gefördert wird, während es bei einem Mangel dieses Salzes überhaupt nicht zur Bildung der männlichen Geschlechtsorgane dieses Pilzes kommt. Auch eine Beobachtung von Laage (1907) ist hier ebenfalls zu nennen, wonach die Sporen von *Pteris aquilina* dadurch zum Austreiben normaler Keimschläuche veranlaßt werden, daß ihnen Nitrate in hinreichender Menge geboten werden.

Auf ähnliche Erfahrungen auf zoologischem Gebiete, die Herbst durch umfassende Versuche mit Echinidenlarven gewonnen hat, möchte ich in diesem Zusammenhange nur hinweisen, ohne auf die interessanten Resultate näher einzugehen.

Neben dem Gehalt des umgebenden Mediums an Nährsalzen kommt dem Licht große Bedeutung für die Zoosporenbildung zu.

Wir haben bei *Oedogonium pluviale* gesehen, daß eine Veränderung der Lichtintensität die Zoosporenbildung veranlassen kann bei Fäden, die durch Kultur in destilliertem Wasser reich an Reservestoffen geworden sind. Auch für andere Algen (*Vaucheria repens*, *clavata*, *Oedogonium capillare*) ist die gleiche Wirkung geschwächter Lichtintensität bekannt.

Auf Grund der Tatsache, daß die Entziehung der rotgelben Strahlen des Spektrums vollkommen zur Auslösung der Zoosporenbildung genügt und in dieser Hinsicht wirksamer ist als der Entzug der blauen Lichtstrahlen, vermutet Klebs, daß die Erregung der Zoosporenbildung mit dem Stillstand der Assimilation in irgend einem

Zusammenhang stehe. Einen (plötzlichen) direkten äußeren Reiz stellte aber die plötzliche Hemmung der Assimilation jedenfalls nicht dar; wenigstens bildete nach Klebs (1896, pag. 36) *Vaucheria* keine Zoosporen, wenn durch Kultur in kohlensäurefreier Luft die Kohlenstoffassimilation äußerst stark reduziert wurde. Dieser Autor meint deshalb (1896, pag. 37), „daß durch die Lichtentziehung noch andere Prozesse in Mitleidenschaft gezogen werden, welche dann erst die Vermehrung herbeiführen. . . . Solche andere Prozesse, die von Licht beeinflußt werden, könnten z. B. chemische Umwandlungen des Zellsaftes sein, mit denen physikalische Veränderungen besonders solche seines osmotischen Druckes verbunden sind“.

Für *Oedogonium pluviale* möchte ich annehmen, daß die Wirkung der Lichtentziehung darin besteht, daß die in den Zellen vorhandenen Reservestoffe im Dunkeln aufgelöst werden. Daß die angehäuften Assimilationsprodukte tatsächlich rasch verschwinden, wenn das Licht den Algen entzogen wird, habe ich früher hervorgehoben. Die Verdunkelung bleibt hinsichtlich der Zoosporenbildung ohne Wirkung bei Fäden, die in Nährösung kultiviert sind und keine Reservestoffe enthalten. Andrerseits können dieselben Fäden, die nach Verdunkelung Zoosporen bilden, dies auch im Licht tun, also bei fortgesetzter Assimilation, wofern ihnen die nötigen Nährsalze zur Verarbeitung der Reservestoffe zugänglich gemacht werden.

Für die anderen Fälle, in welchen infolge von Verdunkelung Zoosporen entstehen, scheint mir diese für *Oedogonium pluviale* geäußerte Annahme nicht immer zutreffend zu sein. Die betreffenden Algen (s. o.) vermögen auf Abschwächung der Belichtung auch dann mit Zoosporenbildung zu reagieren, wenn keine Reservestoffe in ihnen aufgehäuft sind, z. B. wenn die Algen in Nährösung kultiviert wurden.

Anders als *Oedogonium pluviale* verhalten sich die Zysten des *Haematococcus pluvialis* dem Einfluß des Lichtes gegenüber. Durch eine Herabsetzung der Lichtintensität werden sie im Gegensatz zu vielen anderen Algen nicht zur Bildung von Zoosporen angeregt.

Dagegen ist bei ihnen in einer Steigerung der Lichtintensität ein Mittel gegeben, um nach vorangehender Verdunkelung der Zysten diese zur Schwärmerbildung zu veranlassen. Ähnlich wie bei den Zysten von *Haematococcus* wirkt, wie die Versuche von Klebs (1896, pag. 148) lehrten, auch bei *Hydrodictyon utriculatum* unter Umständen eine Steigerung der Lichtintensität dahin, daß die im Dunkeln aufbewahrten Netze in Licht übergeführt zur Zoosporenbildung schreiten. So wurde Schwärmerbildung von Klebs beobachtet, wenn alte Wasserkulturen von Hydro-

dictyon, die im Dunkeln gestanden hatten, ohne daß das Medium gewechselt wurde, belichtet wurden. Besonders intensiv war die Wirkung der Steigerung der Lichtintensität, wenn die Netze vor der Verdunkelung in Wasser sich in Nährlösung aufgehalten hatten.

Interessant und wichtig ist es, daß die Wirkung des Lichtes auf beide Algen hinsichtlich der Zoosporenbildung keine spezifische ist, sondern durch geeignete andere Mittel ersetzt werden kann. Von Hydrodictyon gibt Klebs (1890, pag. 359) an, daß die Netze auch im Dunkeln nach Entfernung der Nährsalze aus ihrer Umgebung Zoosporen bilden können, wenn die Algen in Maltoselösungen gebracht werden.

Ähnlich verhält sich Haematococcus. Auch lange Zeit über verdunkelte Zysten sind imstande, Schwärmer auszubilden, sobald ihnen Rohrzucker oder Traubenzucker zur Verfügung gestellt wird.

Im Hinblick auf diese Tatsache, daß sich auch bei Haematococcus die Wirkung des Lichtes durch Kohlehydrate ersetzen läßt, können wir uns der Ansicht anschließen, die Klebs (1896, pag. 149) hinsichtlich der Bedeutung des Lichtes für die Zoosporenbildung von Hydrodictyon äußert: „daß das Licht deshalb die Zoosporenbildung mit bedingt, weil es bei der Erzeugung eines Kohlehydrates mitwirkt“.

Für die Wirkung des Lichtes wurde durch die organischen Substanzen ein vollständiger Ersatz geschaffen. Ich betone diese Tatsache im Hinblick darauf, daß in einigen Fällen, in denen nach Klebs die Bildung von Geschlechtsorganen (*Vaucheria*, *Spirogyra*) infolge starker Belichtung der Algen vor sich geht, das Licht sich nicht vollständig durch Zucker ersetzen ließ. Bei den genannten Algen wirken Kohlehydrate nur dahin, daß der Prozeß in ihnen schon bei geringer Lichtintensität eintreten kann, als wenn keine derartigen Substanzen disponibel sind. Es gelang nicht, bei vollständiger Abwesenheit von Licht die Kopulation herbeizuführen. Und auch für Hydrodictyon (1890, pag. 380) gibt Klebs an, daß dann, wenn nach Zusatz von Rohrzucker Netze, die sich 14 Tage bis 4 Wochen im Dunkeln aufgehalten haben, geschlechtliche Gameten bilden, „die Dunkelkulturen lange nicht mit derjenigen Sicherheit gelingen wie die Lichtkulturen“.

Scheint demnach das Licht noch in anderer Weise auf den Eintritt der geschlechtlichen Fortpflanzung einzuwirken als bloß dadurch, daß es die Assimilation gestattet, so geht aus den Versuchen hervor, daß hinsichtlich der Bildung der ungeschlechtlichen Zoosporen das Licht nur insofern jedenfalls in Betracht kommt, als im Licht die Bildung neuer Assimilate stattfinden kann.

Auf Grund der bekannten äußeren Faktoren auch die inneren Umwandlungen, die bei der Zoosporenbildung in den Zellen vor sich gehen, mit Sicherheit zu erschließen, ist auch bei anderen Algen bis jetzt nicht gelungen. Wohl sind für manche Fälle intrazelluläre Veränderungen bekannt geworden, ob sie aber für die Bildung der Zoosporen wirklich wesentlich sind oder nicht, hat sich nicht entscheiden lassen. Man weiß ebensowenig, ob bei den verschiedenen äußeren Bedingungen, die die Zoosporenbildung herbeiführen, in allen Fällen sofort gleiche innere Veränderungen in den Zellen Platz greifen oder ob wenigstens die Bedingungen, welche in letzter Instanz als Veranlassung der Zoosporenbildung zu gelten haben und die als Reiz auslösende Faktoren — im eigentlichen Sinne des Wortes — in Betracht kommen, stets die gleichen sind.

In seiner Arbeit über „Probleme der Entwicklung“ diskutiert Klebs (1904) die Frage nach den ersten inneren Veränderungen in den Zellen bei der Zoosporenbildung an dem Beispiel von *Vaucheria repens*. Bei einem Vergleich der verschiedenen Methoden, die bei dieser Alge angewendet werden können, wenn Schwärmerbildung eintreten soll, ließ sich eine erste innere Veränderung, die in allen Fällen eintrat, nicht erkennen. Vielfach war sicherlich einer der ersten Vorgänge im Innern eine Verminderung der Konzentration des Zellsaftes, aber andererseits zeigte es sich, daß Zoosporen auch dann gebildet wurden, wenn Mittel zur Anwendung kamen, die eine Verdünnung des Zellsaftes sicherlich nicht zur Folge hatten. Ebenso kann bei *Vaucheria repens* als Wirkung, die allen äußeren Mitteln gemein ist, eine Erhöhung des Turgordruckes nicht in Betracht kommen, wie sie Ernst (1904, pag. 15) für die Sporenbildung der marinen Siphonen *Vaucheria pilobolooides*¹⁾ als formative Bedingung annehmen zu müssen glaubt, da sich bei dieser Alge die Sporenbildung nur durch Verdünnung des Meerwassers erreichen ließ.

Auf Grund seiner Erfahrungen äußert Klebs (1904, pag. 499) die Vermutung: „daß für das Eintreten der Zoosporenbildung ein bestimmtes Konzentrationsverhältnis der im Zellsaft und Protoplasma gelösten Substanzen, vielleicht ein Verhältnis von anorganischen Salzen zu organischen Stoffen wesentlich wäre“. Diese Annahme lässt sich für

1) Bei anderen Meeresalgen scheint mir die Vermutung von Ernst nicht in allen Fällen zutreffend zu sein. Bei *Bryopsis* konnte ich die Bildung der geschlechtlichen Schwärmer nicht nur durch eine Verdünnung des Meerwassers erreichen, sondern umgekehrt auch dann, wenn ich die Konzentration des Meerwassers durch NaCl oder ähnliche Stoffe steigerte.

Haematococcus pluvialis und *Oedogonium pluviale* aufrecht erhalten. Es wäre sehr wohl denkbar, daß für den Eintritt der Zoosporenbildung ein bestimmtes Verhältnis der Konzentration von irgendwelchen im Zellsaft und Protoplasma gelösten Stoffen ausschlaggebend ist.

Die Regelung dieser Verhältnisse könnte bei den Nährösungs-*Ödogenien*, die relativ wenig für die Ernährung disponibele organische Reservestoffe enthalten, durch einen Entzug der Nitrate und Phosphate erfolgen. Bei den in destilliertem Wasser kultivierten und stärkereichen *Ödogenien* müßte eine Verringerung der organischen Reservestoffe eintreten. Der Verbrauch der Reservestoffe geht, wie wir gesehen haben, vor sich einmal, wenn Nährsalze den Zellen zur Verfügung gestellt werden, und ferner nach Entziehung des Lichtes.

Ebenso können wir auch die Beobachtungen bei *Haematococcus* im Sinne der genannten Annahme auslegen. Zysten, die im Hellen gelebt haben und die vermutlich reichlich mit gewissen organischen Assimilationsprodukten oder Reservestoffen versehen sind, können durch Zuführung von Stickstoffsalzen, die zur Verarbeitung organischer Stoffe der genannten Art in der Zelle beitragen und so deren Konzentration vermindern, zur Schwärmerbildung veranlaßt werden. Umgekehrt liegen die Verhältnisse bei den Zysten, die im Dunkeln gelebt haben. Hier ist infolge der fortdauernden Atmung ein Mangel an gewissen wichtigen organischen Stoffen eingetreten. Erst wenn durch neue Belichtung oder durch Zuführung von Zucker dafür gesorgt wird, daß das Verhältnis der in Betracht kommenden organischen Substanzen zu den anorganischen Salzen wieder geregelt wird, können verdunkelte Zysten Zoosporen bilden. Eine Erhöhung der anorganischen Salze im Zellsaft der verdunkelten Zysten durch einen Zusatz von Nitraten zur Kulturflüssigkeit hat bei diesen Zellen, die relativ wenig von jenen bestimmten organischen Substanzen enthielten, keinen Effekt. Ebenso könnte durch Beleuchtung dann Zoosporenbildung veranlaßt werden, wenn eine einfache Temperaturerniedrigung in den Fällen schließlich unwirksam war, in denen die Zoosporenbildung in den Kulturen vorher durch höhere Temperatur (30—34°) gehindert worden war. Es läßt sich vermuten, daß durch die hohe Temperatur der Verbrauch der Stoffe beschleunigt wurde. Solange der Gehalt an gewissen organischen Stoffen nicht unter eine bestimmte Grenze sank, konnte die Zoosporenbildung in diesen Kulturen, in denen bei gewöhnlicher Temperatur Zoosporen schon früher gebildet wären, vor sich gehen, sobald der hemmende Einfluß der höheren Temperatur beseitigt war. Als der Verbrauch der in Betracht kommenden organischen Stoffe zu weit fortgeschritten war, konnte erst

nach Beleuchtung, also nach Neubildung jener organischen Stoffe seitens der Zysten, die Wirkung der Kulturflüssigkeit einsetzen.

Sollten die eben dargelegten Vermutungen der Wirklichkeit entsprechen oder nahe kommen, so würden auch bei den von mir untersuchten Algen die inneren Veränderungen, die sich in den Zellen vor der Zoosporenbildung abspielen, quantitativer Art sein. Das quantitative Verhältnis von gewissen organischen und anorganischen Stoffen, die für die ganze Lebenstätigkeit der Zellen von größter Bedeutung sind, müßte in einer bestimmten Weise geändert werden, wenn der Inhalt der vegetativen Zellen sich in die ungeschlechtlichen Fortpflanzungszellen verwandeln soll.

Diese Änderungen im Innern der lebenden Zellen müssen ihrerseits durch Veränderungen in der Außenwelt herbeigeführt werden. Wie bei allen von Klebs untersuchten Algen sind diese äußeren Veranlassungen, die den Eintritt der Zoosporenbildung bei *Haematococcus pluvialis* und *Oedogonium pluviale* anregen, „quantitative Veränderungen der für alle Gestaltungsprozesse wichtigen allgemeinen äußeren Bedingungen“. Ein bestimmtes spezifisches Mittel, das allein den Prozeß anregen und durch kein anderes ersetzt werden kann, existiert nicht. Es führen verschiedene Methoden: Steigerung des Nährsalzgehaltes, Entziehung des Lichtes oder der Nährsalze bei *Oedogonium pluviale*, Steigerung der Lichtintensität, Zuführung stickstoffhaltiger Salze bei *Haematococcus* und zweifellos auch noch andere Mittel zum gleichen Ziel. Je nach den vor Beginn der Experimente realisierten Wachstumsbedingungen wird man bald dies, bald jenes Mittel wählen müssen, um Zoosporenbildung hervorzurufen. Steigerung des Nährsalzgehaltes der Umgebung und Verdunkelung lösten bei *Oedogonium pluviale* den Prozeß nur dann aus, wenn die Fäden in destilliertem Wasser gewachsen sind, beide Mittel waren aber unwirksam, wenn die Algen vorher in Nährösung kultiviert wurden. Entsprechend konnte bei *Haematococcus* Zoosporenbildung durch Zusatz von Stickstoffsalzen nur dann erzielt werden, wenn die Zysten vorher dem Licht ausgesetzt waren.

Kurze Zusammenfassung der Hauptresultate.

1. Bei *Oedogonium pluviale* und *Haematococcus pluvialis* sind die äußeren Bedingungen der Zoosporenbildung verschieden je nach den vorhergehenden Wachstumsbedingungen.

2. Die Bedeutung der anorganischen Nährsalze für die Zoosporenbildung beider Algen beruht in erster Linie auf ihren chemischen Eigenschaften.

3. Nach Aufenthalt in Knopscher Nährlösung bildet *Oedogonium pluviale* Zoosporen, wenn der Alge die Nitrate und Phosphate entzogen werden. Eine gleichzeitige Verminderung des osmotischen Druckes im Außenmedium ist in diesem Fall nicht nötig und auch nicht fördernd. Verdunkelung bewirkt bei Ödgonien, die in Nährlösung gewachsen sind, keine Zoosporenbildung.

4. Nach längerer Kultur in destilliertem Wasser bildet *Oedogonium pluviale* Zoosporen entweder nach Verdunkelung oder nach Übertragung in verdünnte Nährösungen. Die Wirkung der Nährösungen beruht auf ihrem Gehalt an $MgSO_4$, K u. Ca. Nitrate und Phosphate allein und miteinander kombiniert können die Nährlösung nicht ersetzen. Bei Kultur in destilliertem Wasser speichern die Fäden von *Oedogonium pluviale* enorm viel Reservestärke, die nach Verdunkelung und nach Überführung der Fäden in Nährlösung wieder aufgelöst wird.

5. Nach Kultur in Rohrzuckerlösung bildet *Oedogonium pluviale* Zoosporen, wenn die Zuckerlösung durch verdünnte Knopsche Nährlösung ersetzt wird.

6. Dauerzysten von *Haematococcus pluvialis*, die in ausgefaultem, altem Wasser im Hellen gelebt haben, entwickeln Schwärmsporen, wenn sie in destilliertes Wasser übergeführt werden oder wenn ihnen geeignete Stickstoffsalze (Nitrate, Nitrit, Ammoniumsalze) zur Verfügung gestellt werden. Licht ist in diesen Fällen nicht notwendig, damit der Prozeß eintritt, erhöht jedoch die Intensität desselben wesentlich.

7. Zysten von *Haematococcus pluvialis*, welche längere Zeit über verdunkelt waren, schreiten zur Schwärmerbildung, wenn sie wieder beleuchtet werden oder wenn ihnen Zucker (Rohrzucker oder Traubenzucker) dargeboten wird.

Literatur.

- Benecke, W., Über Kulturbedingungen einiger Algen. Bot. Ztg. 1898, pag. 83—96.
 Blochmann, F., Über eine neue Hämatococcusart. Habilitationsschrift. Heidelberg 1886.
 Bütschli, O., Dr. H. G. Bronns, Klassen und Ordnungen des Tierreichs. III. Mastigophora. Leipzig u. Heidelberg 1883—87.
 Cohn, F., Nachträge zur Naturgeschichte des *Protococcus pluvialis* Kütz. Verh. der Kaiserl. Leop. Carol.-Akad. d. Naturf., XIV, 1850, Abt. II, pag. 607—965.
 Ernst, A., Siphoneen-Studien III. Zur Morphologie und Physiologie der Fortpflanzungszellen der Gattung *Vaucheria* D. C. Beih. zum botan. Zentralbl. 1904, XVI, 3, pag. 1—16.
 Franck, T., Kultur und chemische Reizerscheinungen der *Chlamydomonas tingens*. Bot. Ztg. 1904.

- Freund, H., Über die Gametenbildung bei Bryopsis. Beih. zum botan. Zentralbl. 1907, XXI, Abt. I, pag. 55—59.
- Herbst, C., Über die zur Entwicklung der Seeigellarven notwendigen anorganischen Stoffe, ihre Rolle und ihre Vertretbarkeit. III. Teil. Die Rolle der notwendigen anorganischen Stoffe. Archiv f. Entwicklungsmechanik der Organismen 1904, XVII, pag. 305—520.
- Hirn, K. E., Monographie und Ikonographie der Oedogoniaceen. Helsingfors 1900.
- Livingston, B. E., On the nature of the stimulus which causes the change of form in polymorphic green algae. Bot. Gaz. 1900, XXX, pag. 289—316.
- Ders., Further notes on the physiology of polymorphism in green algae. Bot. Gaz. 1901, XXXII, pag. 292—302.
- Klebs, G., Über die Vermehrung von Hydrodictyon utriculatum. Ein Beitrag zur Physiologie der Fortpflanzung. Flora 1890, LXXIII, pag. 351—410.
- Ders., Die Bedingungen der Fortpflanzung bei einigen Algen und Pilzen. Jena 1896.
- Ders., Zur Physiologie der Fortpflanzung einiger Pilze. III. Allgemeine Betrachtungen. Jahrb. f. wissensch. Bot. 1900, XXXV.
- Ders., Willkürliche Entwicklungsänderungen bei Pflanzen. Jena 1903.
- Ders., Über Probleme der Entwicklung. III. Biol. Zentralbl. 1904, XXIV, No. 14—19.
- Kohl, F. G., Untersuchungen über das Karotin und seine physiologische Bedeutung in der Pflanze. Leipzig 1902.
- Küster, E., Vermehrung und Sexualität bei den Pflanzen. Leipzig 1906.
- Laage, A., Bedingungen der Keimung von Farn- und Moossporen. Beih. zum bot. Zentralbl. 1907, XXI, pag. 76—115 oder Dissertation zu Halle.
- Oltmanns, Fr., Morphologie und Biologie der Algen. Bd. I, Jena 1904; Bd. II, Jena 1905.
- Pascher, A., Über die Reproduktion bei Stigeoclonium nudiusculum und Stigeoclonium spez. Archiv f. Hydrobiol. u. Planktonkunde 1906, I, pag. 433—438.
- Pfeffer, W., Pflanzenphysiologie, Bd. I. Leipzig 1897.
- Schoene, K., Beiträge zur Kenntnis der Laubmoossporen und zur Biologie der Laubmoosrhizoiden. Flora 1906, Bd. XCVI, pag. 276—321.
- Strasburger, E., Wirkung des Lichtes und der Wärme auf Schwärmsporen. Jena 1878.
- Walz, S., Beitrag zur Kenntnis der Zoosporenbildung bei den Algen. Bot. Ztg. 1868, XXVI, pag. 496—502.