

# Kurze Charakteristik einiger niederer Organismen im Saftflusse der Laubbäume.

Von Dr. W. Krüger.

## 1. Ueber einen neuen Pilztypus, repräsentirt durch die Gattung *Prototheca* (*Pr. muriformis* et *Pr. Zopfi*).

In einer ausführlicheren Mittheilung:<sup>1)</sup> „Beiträge zur Kenntniss der Organismen des Saftflusses (sog. Schleimflusses) der Laubbäume“ habe ich die Resultate meiner Untersuchungen über neu aufgefundene Saftflussbewohner niedergelegt, auf die ich hier im Auszuge zurückkommen will. Es handelt sich dabei sowohl um chlorophylllose wie chlorophyllhaltige niedere Organismen, also um Pilze und Algen, die, wie wir sehen werden, in morphologischer Beziehung mancherlei Analogien zeigen.

Aus dem Saftfluss einer Linde, der von Herrn Geheimrath J. Kühn im Juni des Jahres 1892 bei einem Besuche Jena's aufgenommen und Herrn Prof. W. Zopf zur Untersuchung übergeben war, erhielt ich mit Hilfe der üblichen Gelatinekultur neben verschiedenartigen Oidien-, Hefe-, Schimmel- und Spaltpilzvegetationen auch zahlreiche Kolonien eines anderen chlorophylllosen Organismus, welche durch ihre eigenartige maulbeerförmige Gestalt meine Aufmerksamkeit auf sich zogen. Da sich das Objekt als neu erwies, so wurden davon Reinkulturen hergestellt und diese bildeten das Ausgangsmaterial zu einer morphologischen und physiologischen Untersuchung des Pilzes.

Weitere Untersuchungen von Saftflüssen ergaben, dass auch diejenigen anderer Laubbäume denselben Pilz oder ähnliche Organismen beherbergen, wovon der der Ulme sich bei der Isolirung als besondere Art erwies, während ein solcher aus den Saftflüssen der Rosskastanie, soweit man nach den Kulturen urtheilen darf, mit dem des Lindenflusses identisch ist.

Die beiden untersuchten Pilze, für die auf Zopf's Vorschlag die Genusbezeichnung *Prototheca* gewählt wurde und die ich *Proto-*

<sup>1)</sup> Zopf, Beiträge zur Physiologie und Morphologie niederer Organismen. Heft IV. Leipzig 1894.

*theca moriformis* und *Prototheca Zopfii* benannte, repräsentieren einen ganz neuen, in dem bisherigen Pilzsystem nicht unterzubringenden Pilztypus, der eine Parallelgruppe zu einfachsten protococcaceenartigen Algen darstellt.

### Die morphologischen Eigenschaften der Pilze.

Die verhältnissmässig langsam wachsenden Kolonien — sie werden dem unbewaffneten Auge nach etwa 5 Tagen sichtbar — erscheinen als milchweisse, bei *Pr. moriformis* stark glänzende, bei *Pr. Zopfii* matte Punkte, die, aus der Gelatine hervortretend, manchen Sprosspilzkolonien, aber auch manchen Spaltpilzvegetationen sehr ähnlich sind. Bei schwachen Vergrößerungen dagegen sind die von der Gelatine eingeschlossenen, stets runden Kolonien maulbeerförmig, und zwar am ausgeprägtesten bei *Pr. moriformis*. Entstehen die Kolonien dagegen an der Oberfläche der Gelatine, resp. wachsen sie aus dieser an jene hervor, so sieht man, dass die Masse aus runden Zellen besteht, die bei *Pr. moriformis* einer Schleimmasse, welche auch deutlich die Kolonie umgiebt, eingebettet sind. In dem Falle, wo eine sehr oberflächlich in der Gelatine liegende Kolonie aus jener hervortritt und sich an der Oberfläche ausbreitet, nimmt sie nicht selten eine nierenförmige Gestalt an. Im letzteren Falle bemerkt man an der concaven Seite der Kolonie einen dunklen Fleck oder, falls gleichmässige centrifugale Ausbreitung der Kolonie erfolgte, einen solchen in der Mitte derselben.

Auf der Oberfläche einer Traubenzucker und Pepton enthaltenden Nährgelatine entwickelt sich *Pr. moriformis* vom Impfstrich aus als dicke, milchweisse, glänzende Schleimmasse mit glatten Conturen und glatter, zonenloser Oberfläche, während die ebenfalls weisse Masse von *Pr. Zopfii* in Form flacher, nicht glänzender, mit scharfem, krenulirtem Rande und concentrischer Zonenbildung versehener Vegetation auftritt. Weniger tritt dieser Unterschied auf einer zucker- und peptonhaltigen Agar-Gelatine hervor, hier ist *Pr. Zopfii* ebenfalls mehr schleimig. Auf Bierwürze-Gelatine wächst *Pr. Zopfii* entschieden besser als *Pr. moriformis* und zeigt sie dabei ihren charakteristischen Wuchs noch schöner ausgeprägt, während die auf diesem Substrat erzogene *Pr. moriformis* auffällig gewissen Bacteriaceen ähnelt. Bei der Zucht in den verschiedensten Nährflüssigkeiten entwickeln beide Pilze bei ruhigem Stehen stets nur Ringvegetation an der Oberfläche und Bodensätze, die besonders bei *Pr. moriformis* stark schleimigen Charakter zeigten; Deckenbildungen (Kahmhäute) dagegen wurden niemals erzeugt.

Auf gekochten Mohrrübenscheiben wie auf gekochten Kartoffeln war das Wachsthum gleichfalls ein gutes, doch trat der Unterschied beider Species auch hier nicht so deutlich hervor, denn beide er-

scheinen in gleicher Weise schleimig. Ihr langsames Wachsen erklärt sich zum Theil aus der den Pilzen eigenen Fortpflanzungsweise, die weiter unten zur Besprechung gelangt. Der schleimige Charakter der entwickelten weissen Massen der Pilze tritt sowohl auf festen Substraten, als auch in Flüssigkeiten auf und ist bei *Pr. moriformis* noch etwas stärker als bei *Pr. Zopfii* entwickelt.

Bau und Entwicklungsgang beider Pilze sind sehr einfacher Natur. Entnimmt man von einer Protothecakultur etwa mit einer Platinnadel Material, so erweist sich dasselbe bei mikroskopischer Prüfung als aus zahlreich entleerten Zellhäuten, kleinen meist runden bis ellipsoidischen oder birnförmigen Zellen und kreisrunden oder elliptischen, selten anders geformten (halbmondförmig oder unregelmässig) grösseren Zellgebilden, neben verschieden weit entwickelten Zwischenstadien beider Zellgrössen bestehend. Die grösseren Zellen gehen allmählich aus den kleineren hervor und stellen, nachdem sich ihr Inhalt getheilt hat, die Sporenbehälter (Sporangien) der Pilze dar. Die einfachen Zellen, welche demnach die entleerten und in Entwicklung begriffenen Sporen der Pilze darstellen, treten bei *Pr. moriformis* in ellipsoidischer, selten kugelförmiger, bohnen- oder birnförmiger Gestalt auf, bei *Prototheca Zopfii* dagegen erscheinen sie fast stets exakt kugelig. Die Grösse der Sporen, mehr jedoch noch die der Sporangien ist äussert wechselnd, Art und Menge des Nährmaterials sind darauf von nicht geringem Einfluss.

Bei der Betrachtung der einfachen Zellen glaubt man auf den ersten Blick Hefezellen vor sich zu haben, so täuschend ähneln die Protothecazellen den Sprossformen der Saccharomyceten und andern höhern Pilzen. Indessen findet eine vegetative Vermehrung in Form von hefeartiger Sprossung niemals statt. Die Vermehrung geschieht vielmehr in folgender Weise: Bei günstiger Ernährung vergrössern sich die einfachen Zellen schnell und werden zu Sporangien, indem sich ihr Inhalt in zwei bis mehrere Tochterzellen umbildet. Diese gelangen dadurch in Freiheit, dass die Sporangienhaut sich durch einen Riss öffnet. Die aus den Sporangien durch Sprengung der Membran entleerten Sporen, die übrigens unter keiner Bedingung einen Schwärmzustand einzugehen befähigt sind, vergrössern sich alsbald und werden ihrerseits zu Sporangien. Dieser Vorgang wiederholt sich so oft, als das Nährmaterial ausreicht. Ist dasselbe erschöpft, so gehen die Zellen in einen Zustand mit dickerer Membran und reichem, grobkörnigem Inhalt über, Bildungen, die man wohl als Dauerzustand aufzufassen berechtigt ist. Unter günstigen Bedingungen bilden sich solche Zustände durch Theilung des Inhalts direkt zum Sporangium heran.

Vorstehend ist der Gesamtentwicklungsgang in den Hauptzügen dargelegt, hierauf mögen Zellbau und Zellbildung

etwas näher behandelt werden. Die Zellen und Sporangien besitzen eine dünne farblose Membran, welche bei starker Vergrößerung eine Differenzirung in zwei Schichten erkennen lässt, eine innere, stärker lichtbrechende, derbere und eine äussere, zarte, von sehr schwachem Lichtbrechungsvermögen und mehr schleimigem Charakter.

Man erkennt diese Verhältnisse am besten bei einer Betrachtung in dunklen Flüssigkeiten, z. B. Farbstofflösungen, welche die Membran nicht färben (Nigrosin). Die Zellen sind dann wie mit einer klaren Schicht umgeben.

Bezüglich der chemischen Beschaffenheit der inneren Membran existiren zwischen *Pr. moriformis* und *Pr. Zopfii* erhebliche Unterschiede, die in folgender Tabelle zur Anschauung gebracht sind:

Reagenz.	<i>Prototheca moriformis</i> .	<i>Prototheca Zopfii</i> .
Chlorjodzink . . . . .	Membran deutlich violett.	Keine Färbung der Membran.
Jod und Schwefelsäure . . . . .	Schwache, aber deutliche Bläuung.	Membran nur gequollen und schwach gelb.
Jod-Jodkalium . . . . .	Färbt die Membran nicht.	Keine Färbung der Membran, sondern nur Quellung derselben.
Kupferoxyd-Ammoniak . . . . .	Löst die Membran nicht od. doch nur theilweise.	Keine Lösung, sondern nur Quellung der Membran.

Eine Farbstoffspeicherung in der Membran der *Protothecaarten* trat bei folgenden Farbstoffen in der angegebenen Weise ein:

Methylenblau in Wasser, ebenso M. und Kali . . . . .	Membran schön blau.	Membran schwach blau.
Säurefuchsin . . . . .	desgl. roth.	desgl. schön roth.
Haematoxylin n. Grenacher . . . . .	desgl. violett.	M. violett; jüngere Zellen schwach, ältere kräftig.
Gentiana- u. Methylviolett . . . . .	desgl. violett.	M. schön violett.
Congoroth . . . . .	desgl. schwach rosa.	M. schwach rosa gefärbt.
Dahlia . . . . .	desgl. violett.	M. violett.

Dagegen wurden Färbungen nicht erhalten durch: Nigrosin, Vesuvin, Bismarckbraun und Corallin.

Aus dieser Uebersicht ergibt sich, dass die kräftigere Innenlamelle der Membran von *Pr. moriformis* aus echter Cellulose besteht, allerdings aus einer Modification derselben, die in Kupferoxydammoniak unlöslich ist; die Innenlamelle der Membran von *Prototheca Zopfii*, die sich mit Chlorzinkjod sowie mit Jod und Schwefelsäure nicht färbt, mehr die Eigenschaft der Pilzcellulose besitzt. Auffällig ist der Umstand, dass bei Behandlung mit Grenacher'schem Haematoxylin sowie mit Dahlia sich die Membran bei *Prototheca moriformis* nicht gleichmässig färbt, vielmehr

an den genau den beiden Polen entsprechenden Stellen ein kleiner calottenförmiger Theil viel intensivere Färbung annimmt. Dieselbe entspricht aber nicht etwa stärker verdickten Stellen, wovon man sich nach dem Sprengen der Haut resp. ihrer Entleerung deutlich überzeugen kann.

Die Membran von *Prototheca Zopfii* färbt sich an ganz jungen Zuständen mit Haematoxylin gar nicht, wohl aber an etwas älteren, ohne dass an irgend einer Stelle derselben eine intensivere Nüance dieser Färbung eintrete.

Die äussere Membranschicht, die einen schleimigen Charakter besitzt und namentlich bei *Prototheca moriformis* stark quellungsfähig ist — daher deren Kolonien fadenziehende Eigenschaft aufweisen — dürfte etwa, wie bei *Leuconostoc*, aus einem gummi- oder schleimartigen Körper bestehen. Ich habe versucht, diesen Körper nach dem Verfahren, welches Winter<sup>2)</sup> zur Gewinnung des *Leuconostocgummis* (Dextrans) anwandte, aus einer grösseren Menge von *Pr. moriformis* — die ich in einer Lösung von 3 % Traubenzucker, 1 % Pepton und den nöthigen Nährsalzen gewonnen hatte, zu isoliren, nämlich durch Auskochen der Pilzmasse mit Barythydrat, Ausfüllen des Baryt mit Kohlensäure, Einengen des Filtrats und Fällung mit Alkohol, habe aber ein völlig negatives Resultat erhalten. Jedenfalls darf hiernach angenommen werden, dass die betreffende gummi- oder schleimartige Substanz nicht Dextran ist.

Der Inhalt enthält zunächst ein nicht allzu winziges Körperchen, welches nach Fixirung der Zellen mit Alkohol, Färben mit Haematoxylin und darauf folgendes Auswaschen mit Wasser deutlich blau gefärbt erscheint, also wohl einen Kern darstellen dürfte; er tritt auch nach der Färbung mit Dahlia sehr schön hervor. Wendet man auf die mit absolutem Alkohol ausgewaschenen Zellen Jod-Jodkalium an, so lassen sich im Inhalt von *Prototheca Zopfii* ein bis mehrere eigenthümliche Körper nachweisen, welche sich mit diesem Reagenz deutlich rothbraun resp. bei stärkerer Verdünnung violett färben. Sie haben die Form von rundlichen oder auch unregelmässig eckigen Schollen oder Körnern. Nach ihrer Färbung zu schliessen, stellen sie möglicherweise ein Kohlehydrat dar. Seine Natur wird definitiv nicht eher festgestellt werden können, bis es makrochemisch isolirt und analysirt worden ist. Am reichlichsten wird dieser Körper gebildet, wenn dem Pilze neben aufnehmbarem Stickstoff und den erforderlichen Nährsalzen Traubenzucker, Galactose und Glycerin geboten werden, weniger reichlich findet er sich bei Verabreichung von Milchzucker, Maltose und Dextrin, fast gar nicht, wenn Rohrzucker, Mannit oder Inulin geboten wurde. Bei *Prototheca moriformis*

<sup>2)</sup> Dissertation Halle a. S. 1891: Untersuchungen über das Zuckerrohr.

habe ich den Körper nicht nachweisen können. Hier ist der Inhalt im Allgemeinen weniger körnig als bei *Prototheca Zopfii* und wird mit Jod rein goldgelb gefärbt.

Ausserdem kommt, zumal in älteren Stadien und unter gewissen Verhältnissen, Fett besonders bei *Prototheca Zopfii* in den Zellen vor. Die Fetttropfen lassen sich sowohl an der Braunfärbung mit Osmiumsäure, als an der Rothfärbung mit Alkannatinktur als solche erkennen.

Wie bereits angedeutet, entwickelt sich bei passender Ernährung jede Zelle zu einem Sporangium. Es geschieht dies in der Weise, dass die Zelle sich zunächst mehr oder minder stark vergrössert, etwa um das 2—8fache, worauf ihr Inhalt sich theilt. Die Theilungen, die an lebenden Individuen häufig schwer zu erkennen sind, treten succedan auf, d. h. das Plasma theilt sich zunächst in zwei Hälften, die entweder gleich oder ungleich ausfallen. In den, wie wir sehen, ellipsoidischen Zellen der *Prototheca moriformis* liegt übrigens die Ebene der ersten Theilung meistens schief zur Längsachse. Sodann theilt sich meist jede Plasmahälfte abermals und zwar liegen diese Theilungsrichtungen bald senkrecht, bald schräg zu der ersten. Jedes der Theilstücke kann sich unter Umständen abermals theilen und so fort. Schliesslich umgeben sich die Theilstücke mit zarter Membran. Die ersten Theilungen sind vielfach, besonders bei *Prototheca Zopfii*, schwer wahrzunehmen, weil die Theilungslinien äusserst zart sind. Man kann aber auch in solchen Fällen durch Anwendung schwacher Plasmolyse sich sicher von dem obigen Sachverhalt überzeugen. Je nach der Grösse der ursprünglichen Zellen und je nach dem Grade, zu welchem die Theilung fortschreitet, werden in den Sporangien bis 16, selten mehr Sporen von mehr oder minder gleicher Grösse je nach der Regel- oder Unregelmässigkeit der Theilung erzeugt, meist weniger, häufig selbst nur zwei.

Nach ihrer Bildung schwellen die Sporen etwas auf und runden sich gegen einander mehr oder minder ab. In Folge jener Vergrösserung wird ein Druck auf die Sporangienwand ausgeübt, der zur Folge hat, dass die Membran schliesslich gesprengt wird. Bei den, wie wir sehen, ellipsoidischen Sporangien von *Prototheca moriformis* erfolgt die Sprengung im Aequator — die Sporen treten jetzt aus, entweder zu maulbeerartigen Gruppen vereinigt, was namentlich bei *Prototheca Zopfii* häufig ist oder auch einzeln resp. zu zwei oder wenigen zusammenhängend. Häufig bleiben in der entleerten Sporangienhaut noch Sporen zurück und entwickeln sich weiter bis zum Sporangium, das sich wiederum entleert, so dass die entleerte Haut des einen die des anderen umschliesst. Solche Fälle, wo ein Sporangium sich in der Haut des Muttersporangiums ausbildet und entleert, findet man besonders häufig bei

*Prototheca moriformis*, wohl als eine Folge der grösseren Resistenz der Zellhaut bei dieser Art. Die entleerten Häute gehen besonders rasch bei *Prototheca Zopfii* durch einen Vergallungsprocess allmählich zu Grunde.

Wichtig ist die Thatsache, dass die Sporen niemals Schwärmfähigkeit erlangen.

Die frei gewordenen oder auch in der geöffneten Sporangienhaut liegenden gebliebenen Sporen entwickeln sich alsbald wiederum zu Sporangien und dieser Process wiederholt sich so lange, als Nährstoffzufuhr stattfindet, wobei es gleichgiltig ist, ob sie auf der Oberfläche eines festen Substrates oder in Nährflüssigkeiten wachsen. Mit eintretender Erschöpfung des Substrates verlieren die Zellen die Fähigkeit sich zu Sporangien zu entwickeln. Sie schwellen mehr oder minder auf und werden, wie es scheint, etwas dickwandiger und fettreicher. Solche Zustände darf man vielleicht als Dauerzustände (Dauersporen) aussprechen. Auf oder in ein neues Substrat ausgesät, entwickeln sie sich alsbald wieder zu Sporangien.

Nach dieser kurzen Darlegung der Morphologie der Pilze wäre ihre systematische Stellung zu erörtern. Dass es sich um pilzliche Organismen handelt, ist nach dem Dargelegten wohl unzweifelhaft. Allein sie lassen sich weder bei den Phycomyceten noch bei den Mycomyceten unterbringen. Was die Letzteren anbetrifft, so finden wir Sporangienbildung nur bei den Ascomyceten. Aber die Sporenbildung im Ascus ist eine ganz andere, als bei *Prototheca*, denn deren Sporangieninhalt bildet sich durch succedane Zweitheilung zu Sporen um. Unter den Phycomyceten könnten nur die einfachsten Formen mycelloser Chytridiaceen zum Vergleich herangezogen werden, aber hier entstehen die endogenen Sporen nicht durch succedane, sondern durch simultane Theilung des Sporangieninhalts und werden übrigens in Schwärmerform ausgebildet, was bei *Prototheca* nicht stattfindet. Es ist daher nicht wohl möglich, unter den bis jetzt bekannten Pilztypen für die Arten der Gattung *Prototheca* einen passenden morphologischen Anschluss zu finden. Sehen wir uns nun nach einem solchen Anschluss bei den Algen um. Da fällt uns sofort eine grosse Aehnlichkeit in die Augen, welche in gestaltlicher und entwicklungsgeschichtlicher Beziehung zwischen *Prototheca* und gewissen, niederen chlorophyllgrünen Algen und zwar den Protococcaceen unter den Palmellaeeen herrscht. Namentlich frappant ist die Analogie mit solchen Formen, wie sie Beyerinck als *Chlorella vulgaris* beschreibt und, wenn wir abschen von der Schwärmerbildung, auch mit *Cystococcus humicola* Nägeli und mit *Chlorosphaera limicola* Beyerinck. Ich selbst züchtete neben anderen aus den Saftflüssen von Pappeln und Ulmen eine Alge, welche mit Beyerinck's

*Chlorella vulgaris* viel Aehnlichkeit hat. Diese meine Species ist bei gewisser Ernährung so arm an Chlorophyll, dass sie bei starker Vergrößerung fast oder ganz farblos erscheint und nur in Menge deutlich gelbe resp. grüne Färbung zeigt. Vergleicht man diese Alge genau mit *Prototheca Zopfii*, so kann man bezüglich der Gestalt und Entwicklungsweise keinerlei Differenz erkennen. Wer nicht weiss, dass die Alge wirklich Chlorophyll enthält, würde sie unter dem Mikroskop für eine *Prototheca* halten. In dem nächsten Abschnitte wird ausführlicher über diese Alge berichtet werden.

Hiernach dürfte es berechtigt sein, die *Prototheca* als einen besonderen Pilztypus aufzufassen, der morphologisch die Gegenstücke zu jenen einfachsten *Protococcaceen* bildet, sich also zu diesem ähnlich verhält, wie die Spaltpilze zu den blaugrünen Algen (*Phycochromaceen*), wie die *Saprolegnien* zu den *Siphoneen* und die *Ascomyceten* zu den *Florideen* sich verhalten.

### Zur Physiologie der untersuchten Pilze.

Zunächst wurden die Grenzen der Lebensfähigkeit und die Grenzen der Wachstumsthätigkeit geprüft. In ersterer Beziehung kamen in Betracht Temperatur und Austrocknung, in letzterer Temperatur und Sauerstoff- (Luft)bedürfniss.

Sodann habe ich die Nährtüchtigkeit gewisser Substanzen, als auch den Einfluss verschiedener organischer und unorganischer Verbindungen untersucht und endlich mein Augenmerk auf etwa zur Ausscheidung kommende Stoffwechselprodukte gerichtet.

Ich kann hier weder auf die dabei angewandten Verfahren noch ausführlich auf die Ergebnisse eingehen, sondern muss mich darauf beschränken, die letzteren in kurzer Fassung wiederzugeben.

Wenn wir die Ergebnisse der Versuche über die Temperaturgrenzen der Lebensfähigkeit der untersuchten Pilze in übersichtlicher Weise anordnen, so ergibt sich Folgendes:

Es liegt:

	Bei Anwendung feuchter Wärme.	Bei Anwendung trockner Wärme.
Die obere Temperaturgrenze der Lebensfähigkeit für	<i>Prototheca moriformis</i> bei 52—53°	70—75 (85 bis 90°).
	<i>Prototheca Zopfii</i> bei 45—46°	65—66°.
	<i>Prototheca moriformis</i> bei — 83°	(4 stündige Dauer) nicht erreicht.
Die untere Temperaturgrenze der Lebensfähigkeit für	<i>Prototheca Zopfii</i>	desgl.

Gegen Austrocknung sind die Pilze ziemlich empfindlich, denn in Wasser aufgeschwemmtes Material auf Objektträger eingetrocknet, hatten im Schwefelsäureexsiccator bei *Prototheca moriformis*



schon nach 8 Tagen, bei *Prototheca Zopfii* bereits nach 3 Tagen ihre Lebensfähigkeit eingebüsst; dagegen hielt sich auf Objektträger dünn ausgestrichenes Material von *Prototheca moriformis* unter denselben Bedingungen einige Monate lebensfähig.

Bezüglich der Grenzen der Wachstumsthätigkeit der beiden Pilze wurde Folgendes ermittelt. Es liegt:

	für <i>Prototheca moriformis</i>	für <i>Prototheca Zopfii</i>
das Minimum	bei 6—10°	bei 6—10°
„ Optimum	„ 29—31°	„ ca. 25°
„ Maximum	„ ca. 38°	„ „ 30°

Optimum und Maximum liegen also bei *Prototheca moriformis* wesentlich höher als bei *Prototheca Zopfii*.

Die Untersuchungen über die Wachstumsthätigkeit in Beziehung zum Sauerstoff ergaben, dass wir es in den beiden vorliegenden Arten der Gattung *Prototheca* mit Organismen zu thun haben, die ein ausgesprochenes Luftbedürfniss zeigen. Stichkulturen in Reagirgläsern mit etwa 10 ccm Nährgelatine geben daher nur an der Mündung des Stiches eine üppige Entwicklung und hört das anfänglich schwache Wachstum in grösserer Tiefe bald auf. Dasselbe ergibt sich, wenn man Keime der *Prototheca*arten mit Gelatine mischt und nun schnell erkalten lässt. Es findet dann kaum eine oder nur eine geringe, kurz bemessene Entwicklung von Kolonien in den tieferen Schichten der Gelatine statt, sondern die Entwicklung beschränkt sich vielmehr auf die Oberfläche und auf einen circa 1 mm breiten Ring unter derselben. Was die Ernährung der Pilze anbetrifft, so ist zunächst zu erwähnen, dass die Pilze sowohl auf schwach alkalischen, als auch auf schwach sauren Substraten wachsen, erstere scheinen *Prototheca moriformis*, letztere *Prototheca Zopfii* mehr zuzusagen.

Von natürlichen Nährböden erwiesen sich besonders gekochte Kartoffeln und Mohrrüben als geeignet, besonders auf letzteren war die Entwicklung sehr reichlich. Milch dagegen scheint zur Ernährung wenig vortheilhaft zu sein, ob dies jedoch eine Folge der chemischen oder der physikalischen Beschaffenheit derselben ist, muss unentschieden bleiben. In Fleischextraktlösungen treten nach einer kurz bemessenen Entwicklung bald die erwähnten Dauerzustände auf.

Die Hauptaufgabe der Ernährungsversuche bestand darin, festzustellen, welche Substanzen sich als Kohlenstoff- und Stickstoffquellen eignen. Zur Prüfung der ersteren Frage wurden neben Pepton und Nährsalzen eine Reihe von Kohlehydraten und mehrwerthigen Alkoholen verabreicht. Da in Lösungen, welche ausser Pepton nur Nährsalze, aber keinen der auf ihren Nährwerth zu prüfenden Körper der beiden zuletzt genannten Körpergruppen enthielten, keine merk-

liche Entwicklung der Pilze wahrzunehmen war, so folgt daraus, dass Pepton nicht als Kohlenstoffquelle dienen kann und die Möglichkeit einer gleichzeitigen Deckung des Kohlenstoff- und Stickstoffbedarfs aus dieser organischen Stickstoffverbindung ist wenigstens somit ausgeschlossen. Ferner ergab sich, dass von den zur Untersuchung herangezogenen Kohlehydraten und mehrwerthigen Alkoholen nur Traubenzucker, Galactose, Milchzucker, Maltose, Dextrin und Glycerin ernährend wirken und zwar Traubenzucker, Galactose und Glycerin mit besserem Erfolge als die weiter genannten Verbindungen. Es nähren dagegen nicht Rohrzucker, Inulin, Mannit und Erythrit. Säuerung tritt dabei nur in Traubenzucker- und Galactoselösungen ein. Gut nährnde Verbindungen endlich bewirken die Bildung grösserer Zellen resp. Sporangien. Bei der Prüfung der Frage, die Deckung des Stickstoffbedarfs betreffend, wurden neben Traubenzucker und Nährsalzen Stickstoffverbindungen in der verschiedensten Form verabreicht und zwar neben den organischen Verbindungen Pepton, Asparagin und weinsaurem Ammoniak, anorganische Ammoniak- und salpetersaure Salze. Diese Versuche ergaben, dass eine ziemlich gute Entwicklung selbst ohne Verabreichung von Stickstoffverbindungen erfolgt. Es ist daher höchst wahrscheinlich, dass der benötigte Stickstoff aus der Atmosphäre genommen wird. Nähere Prüfungen dieses Punktes wurden jedoch nicht ausgeführt. Fasst man neben der Quantität aber auch die Qualität der Zellen in's Auge, so ist diese jedenfalls eine andere, wenn Pepton, Asparagin, weinsaures, salpetersaures und schwefelsaures Ammoniak zur Verwendung kommen, als wenn Stickstoffzusatz fehlt oder der Stickstoff in Salzen nur in Form von Salpetersäure verabreicht wird, denn erstens werden die Zellen grösser und zweitens zeigen sie eine andere Inhaltsbeschaffenheit; den erstgenannten Körpern muss also wohl eine Rolle bei der Ernährung zugeschrieben werden. Für *Prototheca Zopfii* muss noch bemerkt werden, dass ohne Verabreichung von Stickstoff oder nährenden Stickstoffverbindungen die zur Entwicklung kommenden kleinen Zellen sich als sehr fettreich erweisen.

Die Versuche zur Prüfung des Einflusses der Concentration nährnder Verbindungen auf das Wachsthum der Pilze ergaben, dass mit zunehmender Concentration der zur Anwendung gelangten die Grösse der Zellen resp. Sporangien abnimmt, und dass die Säuerung, wo solche überhaupt aufzutreten pflegt, unterbleibt. Gegenüber anderen, besonders Schimmelpilzen und Bakterien zeigte sich, dass die Concentrationsgrenze hinsichtlich des Wachsthums ziemlich niedrig gelegen ist, denn dieselbe ist für Glycerin schon etwa mit 20%, für Traubenzucker, Milchzucker und Dextrin mit 30%, für Asparagin, weinsaures, salpetersaures und schwefelsaures Ammoniak schon mit etwa 5% erreicht.

Schliesslich wurde eine Reihe anorganischer Salze ohne Rücksicht auf ihren Nährwerth bezüglich ihrer Einwirkung in verschiedenen Concentrationen auf das Wachstum der beiden Pilze geprüft. Diese Versuche ergaben, dass mit Ausnahme der schwefelsauren Magnesia bei allen zur Verwendung gekommenen Salzen die für das Gedeihen von *Prototheca moriformis* und *Pr. Zopfii* zulässige Concentration der Lösungen mit 10%, theils überschritten, theils erreicht ist, denn nur bei einigen wenigen findet dabei noch eine geringe Entwicklung statt. Auch bei diesen Versuchen zeigte sich, dass mit zunehmender Concentration die Zellen im Allgemeinen kleiner werden und dass die Säuerung schliesslich ganz unterbleibt. Uebrigens liegt die Concentrationsgrenze für Chloride und Nitrate niedriger, als für Phosphate und Sulfate.

Ueber zur Ausscheidung kommende Stoffwechselprodukte ist bei diesen Pilzen hauptsächlich nur die Bildung einer Säure zu vermelden, deren Natur ich jedoch bis jetzt noch nicht festgestellt habe. Weder auf den verschiedenartigen im Laufe der Untersuchung zur Verwendung gekommenen Gelatine-Nährböden, noch auf einer speciell für diesen Zweck präparirten Gelatine ohne Peptonzusatz trat Peptonisirung ein, so dass also kein Gelatine peptonisirendes Ferment zur Abscheidung kommt.

Ferner wurde mit Hilfe einer Stärkemehl enthaltenden, aber von nährenden stickfreien Kohlenstoffverbindungen freien Gelatine erwiesen, dass auch kein Stärkelösendes, diastatisches Ferment gebildet wird. Entwicklung auf einem solchen Substrat blieb vollständig aus, mochte dasselbe nun schwach sauer, neutral oder schwach alkalisch sein.

## 2. Ueber zwei aus Saftflüssen rein gezüchtete Algen.

Bei meinen Bemühungen, die Verbreitung von *Prototheca*-Arten in den Saftflüssen der verschiedenen Laubbäume festzustellen, traten mir noch zahlreiche andere Organismen entgegen. Unter diesen nahmen mein Interesse vor allen Dingen die chlorophyllhaltigen in Anspruch, also die Algen.

Es gelang mir nämlich im August 1892 in Gelatineschalenkulturen, welche mit Material eines Saftflusses der Silberpappel (*Populus alba*) angesetzt waren, chlorophyllgrüne und mehr gelbgrüne Kolonien aufzufinden, die sich als zwei verschiedenen Algen angehörig erwiesen. Da meine Versuche, sie in Reinkultur weiter zu züchten, alsbald glückten, ausserdem aber bei vorläufiger mikroskopischer Prüfung sich eine auffällige Aehnlichkeit besonders der einen Art mit den im vorhergehenden Abschnitte dieser Abhandlung charakte-

risirten Prototheca-Arten herausstellte, so nahm ich Veranlassung, auch diese Algen in morphologischer und physiologischer Beziehung etwas näher zu untersuchen.

Algenreinzuchten sind bisher nur von Seiten Beyerinck's<sup>3)</sup> bekannt, da nun meine Objekte, wie ich zeigen werde, nicht mit denen von Beyerinck identisch sind, so lässt sich hoffen, dass die Reinzuchtmethodē sich auf eine grössere Anzahl niederer Algen ausdehnen lassen wird.<sup>4)</sup> Dieselbe wird sicherlich nicht allein für die Physiologie, sondern auch für die Morphologie derselben von Bedeutung werden.

Von den beiden untersuchten Algen stelle ich die eine auf Grund der Verwandtschaft mit den von Beyerinck untersuchten Chlorellen in die Gattung *Chlorella* und bezeichne sie als *Chlorella protothecoides*; für die andere habe ich, da ich sie sonst nicht unterzubringen vermochte, die neue Gattungsbezeichnung *Chlorothecium* gewählt und nenne sie *Chlorothecium saccharophilum*.

Was das Vorkommen und die Verbreitung dieser beiden Algenarten betrifft, so habe ich sie ganz ebenso wie *Prototheca moriformis* und *Pr. Zopfii* bis jetzt nur in den Saftflüssen der Laubbäume nachweisen können, niemals aber ausserhalb derselben, etwa im Wasser oder auf dem Boden etc. Im Flusse der Silberpappel kamen sie beide nebeneinander vor, desgleichen in demjenigen der Schwarzpappel.<sup>5)</sup> In dem Saftfluss einer Ulme bei Raschewitz<sup>6)</sup> in Schlesien, sowie in einem Ulmenflusse bei Döllnitz an der Elster, ferner in einem solchen des landwirtschaftlichen Instituts und der Rabeninsel zu Halle fand ich eine Alge, die morphologisch nicht von *Chlorella protothecoides* zu unterscheiden war.

## Die morphologischen Eigenschaften der untersuchten Algen.

### *Chlorella protothecoides*.

Bezüglich der Art und Weise der Kolonienbildung und des Wachstums auf festen Nährsubstraten ist nach dem bei *Prototheca Zopfii* Mitgetheilten nicht viel mehr hinzuzufügen, als dass sich die Kolonien von denen jener durch eine gelbgrüne, später bei Er-

<sup>3)</sup> M. W. Beyerinck. Kulturversuche mit Zoochlorellen, Lichenen Gonidien und anderen niederer Algen. Botanische Zeitung 1890. Desgleichen Bericht über meine Kulturen niederer Algen auf Nährgelatine. Centralblatt für Bacteriologie und Parasitenkunde. Band XIII. 1893.

<sup>4)</sup> Ich selbst habe bereits noch andere Arten (und zwar etwa 7) als die oben genannten, in Reinkultur erhalten. Die hier zur Behandlung kommenden legte ich schon in einer Novembersitzung der Naturforschenden Gesellschaft 1892 vor.

<sup>5)</sup> So z. B. auf einer Silberpappel der Peissnitz bei Halle a. S. und auf Schwarzpappeln an den zu dieser Saaleinsel führenden Wegen.

<sup>6)</sup> Das Material danke ich der freundlichen Vermittelung des Herrn Dr. K. Bruhne.

schöpfung des Nährbodens dunklergrüne Färbung unterscheiden. Auch der mikroskopische Unterschied dieser beiden verschiedenen Pflanzengruppen angehörigen Organismen ist derartig gering, dass nur die blassgelbe Farbe eine Unterscheidung zulässt, häufig tritt diese jedoch so zurück, dass es schwer ist, Bilder dieser von solchen jener zu unterscheiden, ja in Gemischen beider würde es unmöglich sein, einzelne Individuen sicher zu identificiren. Das Vorhandensein oder Fehlen des Chlorophylls ist überhaupt der einzig durchgreifende Unterschied dieser beiden Organismen, denn auch in sonstiger physiologischer Beziehung verhalten sie sich, was ich hier schon hervorheben will, vollständig übereinstimmend.

Vorstehendes gilt hauptsächlich für Material, welches unter günstigen Ernährungsbedingungen erwachsen ist, d. h. wo den Organismen neben assimilirbaren Stickstoffverbindungen irgend eine aufnehmbare Kohlenstoffverbindung (Traubenzucker, Glycerin etc.) gegeben wird. Hier tritt, weil die Zellen keine Kohlensäure zu assimiliren brauchen, da sie ja andere Kohlenstoffquellen haben, die Bildung des Chlorophylls zurück. Anders verhält sich die Sache dagegen, wenn assimilirbare Kohlenstoffverbindungen nicht dargeboten werden, dann findet bei *Prototheca Zopfii* keine Entwicklung statt, während bei *Chlorella protothecoides*, wenn auch unter bedeutender Verringerung der Vermehrung, reichlich Chlorophyll gebildet wird.

Die Zellen besitzen einen körnigen, sich mit Jod-Jodkalium goldgelb färbenden Inhalt. Zellen, die einen Chlorophor deutlich erkennen lassen, besitzen einen mehr homogenen Inhalt. Mit Hämatoxylin nach Grenacher gefärbte, genügend ausgewaschene und in Glycerin-Alaun aufgehellte Präparate lassen den kleinen Zellkern leicht erkennen. Ferner treten, und zwar besonders reichlich bei gewissen Ernährungsformen, z. B. ohne Stickstoffgaben oder aufnehmbare Stickstoffverbindungen ganz wie bei *Pr. Zopfii* Fetttropfchen auf, die eine ziemliche Grösse erreichen können und in den erwähnten Fällen das Innere der Zelle fast ausfüllen. Endlich färbt sich ein Theil des Inhalts besonders dann, wenn leicht aufnehmbare Kohlenstoffverbindungen (Traubenzucker, Glycerin) dargeboten werden, mit Jod-Jodkalium rothbraun, es wird also auch derselbe bei *Prototheca Zopfii* aufgefundene Körper gebildet. In nährstoffarmen oder schlecht nährenden Medien (Maltose, Milchzucker, Dextrin) erwachsenes Material ist vakuolenreich. Der Chlorophor, der hier wie bei *Chlorella saccharophilum* nur dann scharfbegrenzt zur Wahrnehmung gelangt, wenn die Alge darauf angewiesen ist, ihren Kohlenstoffbedarf mit Hilfe des Chlorophylls aus der Kohlensäure zu decken, besitzt ausgesprochen Mantelform. In jungen Kulturen z. B. auf Bierwürzelatine, die im Strich anfangs vollständig

blassgelb gefärbt erscheinen und erst später an der Oberfläche in chlorophyllgrün übergehen, kann man in den Zellen nur vereinzelt die Lage des Chlorophors an einer nicht scharfbegrenzten gelbgrünen Färbung wahrnehmen. Erst mit Erschöpfung des Nährsubstrates bei Zutritt von Licht hebt sich der Chlorophor auch hier deutlicher vom Inhalt ab. Die Zellhaut, mit nur schwachem Schleimhof versehen, scheint sich leicht zu lösen, denn im Gegensatz zu *Prototheca moriformis* nimmt man hier ähnlich wie bei *Pr. Zopfii* weniger reichlich leere Sporangienhäute wahr. Wie auffallend die Ernährung auf die Ausbildung der Zellen resp. Sporangien von Einfluss ist, kann aus einer Vergleichung von Präparaten aus Kulturen mit nährenden Kohlenstoffverbindungen und solchen ohne letztere entnommen werden, man hat dann Zustände der *Chlorella protothecoides* vor sich, deren Zusammengehörigkeit man ohne Kulturexperiment wohl kaum vermuthen dürfte.

Der Entwicklungsgang der Zellen bis zur Ausbildung des fertigen Sporangiums unterscheidet sich von dem bei *Pr. Zopfii* in Nichts.

### **Chlorothecium saccharophilum.**

Auch diese Alge zeichnet sich durch grösste Einfachheit im Bau und Entwicklungsgang aus. Die Zellen (Sporangien) sind im Gegensatz zu *Chlorella protothecoides* ellipsoidisch oder eiförmig, seltener kugelförmig, bohnen- oder birnförmig und ähneln in ihrer Gestalt der im vorigen Abschnitt beschriebenen *Prototheca moriformis*. Ganz besonders häufig sind bei dieser Alge auf gut nährenden Substraten abnormale Zellformen, besonders aber solche, die sich durch einen kleinen Fortsatz auszeichnen, so dass man birnförmige bis kaulquappenartige Gestalten zu Gesicht bekommt.

Bei der Prüfung des Inhalts treten einem ausser dem schwierig nachzuweisenden Zellkern zunächst die oben bei *Chlorella protothecoides* und *Prototheca Zopfii* erwähnten Körperchen entgegen, die sich mit Jod-Jodkalium rothbraun färben. Bei guter Ernährung entschieden weit weniger reichlich, als bei den soeben genannten Pflanzen tritt hier in den Zellen Fett auf. Was endlich den Chlorophor anbetrifft, so zeigt er eine andere Form als bei *Chlorella protothecoides*, insofern er gestreckter und flacher ist. Er tritt am schönsten hervor in solchen Zellen, die ohne Verabreichung von Kohlenstoffquellen erwachsen sind. Bevor die Zellen Theilung eingehen, theilt sich auch der Chlorophor, und zwar in so viele mehr oder weniger unregelmässige Theile, als die Mutterzelle Tochterzellen (Sporen) erzeugt. Während in den Zellen, wo ein Chlorophor scharf umgrenzt wahrnehmbar ist, der Inhalt meist theilweise homogen, theilweise feinkörnig ist, ist der Inhalt bei solchen Zellen, denen bei ihrer Ausbildung reichlich Kohlenstoffnahrung (z. B. Traubenzucker) zur Verfügung stand, wesentlich anders beschaffen, der Inhalt ist

grobkörnig und der Chlorophor ist nicht scharf begrenzt, ja oft nur schwierig wahrnehmbar.

Die Vermehrungsart ist hier ebenfalls einzig und allein die durch in Sporangien erzeugte Sporen. Die Sporen (Gonidien), welche fast ausnahmslos ellipsoidisch sind, vergrössern sich bei günstiger Ernährung ziemlich schnell, ihr Inhalt theilt sich darauf, die einzelnen Theilstücke runden sich ab und endlich durch Sprengung der Membran gelangen die gebildeten Tochterzellen in Freiheit. Letztere nehmen niemals Schwärmzustand an. Bildung von ausgesprochenen Dauerzuständen konnte ich bei dieser Art nie beobachten, während ich sie bei *Chlorella protothecoides* in der bei *Prototheca Zopfii* geschilderten Weise wahrnahm.

Die Membran der Zellen und Sporangien ist dünn und farblos und weniger schleimig als bei der vorhin behandelten Alge, *Chlorella protothecoides* und den *Prototheca*-Arten. Die Auflösung der entleerten Sporangienhaut scheint hier noch weit schneller als bei den beiden zuletzt genannten Organismen vor sich zu gehen, denn Pleurococcusartig verbundene, von der verschleimten Membran umgebene Zellhäufchen findet man hier nicht. Auch wird die Zweischichtigkeit der Membran jener bei *Chlorothecium saccharophilum* nicht bemerkt. Dass aber auch das chemische Verhalten der Membran der hier in Betracht kommenden Alge ein anderes ist, als bei *Chlorella protothecoides* und *Prototheca Zopfii*, möge folgende Tabelle lehren:

Reagenz.	<i>Prototheca Zopfii</i> .	<i>Chlorella protothecoides</i> .	<i>Chlorothecium saccharophilum</i> .
Chlorjodzink .	Keine Färbung der Membran.	Keine Färbung der Membran.	Keine Färbung der Membran.
Jod u. Schwefelsäure . .	Membran schwach gelb und gequollen.	Membran schwach gelb gefärbt, gequollen.	Membran schwach gelb gefärbt.
Jod-Jodkalium	Keine Färbung der Membran-Quellung.	Keine Färbung der Membran-Quellung.	Keine Membranfärbung.
Kupferoxyd-Ammoniak .	Keine Lösung, sondern nur Quellung der Membran.	Keine Lösung, sondern nur Quellung der Membran.	Membran nicht lösend.
Methylblau in Wasser, Methylblau und Kali . . . .	Membran schwach blau.	Membran schwach blau.	Membran nicht gefärbt.
Säurefuchsin .	Membran schön roth.	Membran gefärbt.	Membran nicht gefärbt (od. doch nur sehr schwach?)

Reagenz.	Prototheca Zopfii.	Chlorella protothecoides.	Chlorothecium saccharophilum.
Haematoxylin n. Grenacher	Membran violett.	Membran violett.	Membran nicht gefärbt.
Dahlia. . . .	Membran gefärbt.	Membran nicht gefärbt.	desgl.
Gentianaviolett	Membran schön violett.	Membran violett.	desgl.
Methylviolett . . .	desgl.	desgl.	desgl.
Congoroth . . .	Membran schwach rosa gefärbt.	Membran schwach gefärbt.	Membran schwach rosa.

Nigrosin, Vesuvin, Bismarckbraun und Corallin färben bei allen drei Organismen die Zellhaut nicht

Wenn wir den Entwicklungsgang von *Chlorothecium saccharophilum* und *Chlorella protothecoides* mit dem Entwicklungsgange der im ersten Abschnitte dieser Arbeit charakterisirten *Prototheca*-Arten in näheren Vergleich ziehen, so ergibt sich eine ausgesprochene Aehnlichkeit. Jede Zelle wird nach vorheriger Vergrößerung zu einem Sporangium, indem der Inhalt successive Zweitheilung eingeht. Die Theilstücke runden sich schliesslich ab und werden aus der sich öffnenden Sporangienmembran entleert. Schwärmstadien treten niemals auf. Dieser Entwicklungsgang wiederholt sich dann so oft als die Ernährungsverhältnisse es gestatten, bis endlich Entwicklungszustände auftreten die man vielleicht als Dauerstadien auffassen dürfte, in Rücksicht auf die etwas grössere Membrandicke und den reicheren Inhalt. Der einzige durchgreifende morphologische Unterschied zwischen genannten beiden Algen einerseits und den *Prototheca*-Arten andererseits liegt in der Bildung von Chlorophoren. Aber unter gewissen Ernährungsverhältnissen tritt die Ausbildung von Chlorophoren bei jenen Algen namentlich bei *Chlorella protothecoides* so stark zurück, dass auch dieses Unterscheidungsmerkmal nicht mehr stichhaltig bleibt. Wie gross die Aehnlichkeit zwischen *Prototheca Zopfii* und *Chlorella protothecoides* unter Umständen werden kann, geht wohl daraus hervor, dass Prof. Zopf, der diese beiden Objekte doch genau kennt, dieselben mikroskopisch nicht zu unterscheiden vermochte, wenn die genannte Alge in fast chlorophyllloser Form vorlag und ich ihm absichtlich nicht gesagt hatte, welches der Pilz und welches die Alge sei.

Aus dieser auffallenden morphologischen Aehnlichkeit dürfte die Berechtigung abzuleiten sein, die hier in Betracht kommenden Algen, sowie die anderen sich morphologisch anschliessenden Algenformen



(z. B. die von Beyerinck l. c. untersuchten) als einer Parallelgruppe zu den Prototheca-artigen Pilzen aufzufassen, was ich auch bereits in der vorausgehenden Mittheilung betont habe.

### Einige physiologische Eigenschaften der Algen.

Die mit den aus den Saftflüssen der Bäume in Reinkultur erhaltenen Algen eingeleiteten physiologischen Versuche sind in derselben Weise und Ausdehnung vorgenommen, als solche bei den beiden Protothecaarten, besonders Pr. Zopfii, zur Ausführung kamen, ja meist sind die Versuche mit Pr. Zopfii mit denen der Algen gleichlaufend.

Sie erstrecken sich nämlich auf die Grenzen der Lebensfähigkeit und die Grenzen der Wachstumsthätigkeit, dort kamen Temperatur und Austrocknung, hier Temperatur und Sauerstoffbedürfniss in Betracht. Ferner wurde die Nährtüchtigkeit gewisser Substanzen als auch der Einfluss der Concentration verschiedener organischer und anorganischer Verbindungen auf das Wachstum geprüft. Endlich war das Augenmerk auf etwaige Stoffwechselprodukte gerichtet. Auch hier werde ich mich mit einer kurzen Wiedergabe der Ergebnisse der eingeleiteten Versuche begnügen.

In übersichtlicher Darstellung lauten die Resultate der Versuche, die bezüglich der Temperaturgrenzen der Lebensfähigkeit angestellt sind, wie folgt:

Es liegt:	Bei Anwendung feuchter Wärme	Bei Anwendung trockener Wärme
Die obere Temperaturgrenze der Lebensfähigkeit für	Chlorella	
	protothecoides bei 45-46°	bei 65°
	Chlorothecium	
	saccharophilum bei 44-45°	bei 66-67°
Die untere Temperaturgrenze der Lebensfähigkeit für	Chlorella	
	protothecoides bei - 83°	(4 stündige Dauer)
	Chlorothecium	nicht erreicht.
	saccharophilum	desgl.

Die obere Temperaturgrenze der Lebensfähigkeit dieser Algen liegt also im Vergleich zu anderen Organismen verhältnissmässig niedrig.

Auch gegen Austrocknen erwiesen sich die vorliegenden Algen äusserst empfindlich, denn während die Lebensfähigkeit bei Chlorella protothecoides schon nach 3 Tagen erloschen war, wenn man in Wasser aufgeschwemmtes Material auf Objektträger eintrocknen liess und der Austrocknung im Schwefelsäureexsiccator aussetzte, erreicht die Lebensfähigkeit bei Chlorothecium saccharophilum unter denselben Verhältnissen ihre Grenze nach etwa 8tägiger Austrocknung. Erstere Alge verhält sich also in dieser Beziehung ganz wie Prototheca Zopfii, letztere wie Prototheca moriformis.

Die Grenzen der Wachstumsthätigkeit der beiden Algen sind in nachstehender Zusammenstellung angegeben. Es liegt:

Für <i>Chlorella protothecoides</i>	Für <i>Chlorothecium saccharophilum</i>
das Minimum höher als 5—6°	höher als 5—6°
„ Optimum bei 27°	bei 27°
„ Maximum „ 30—31°	„ 30—31°.

Die Grenzen der Wachstumsthätigkeit liegen also bei den untersuchten Algen etwa wie bei *Prototheca Zopfii*.

Sowohl aus StICKKulturen wie auch aus Mischkulturen in Reagirgläsern geht hervor, dass die vorliegenden Organismen ein grosses Luftbedürfniss besitzen und sich in einer Beziehung fast ganz wie die Arten der Gattung *Prototheca* verhalten. Während bei StICKKulturen nur an der Mündung und bis zu dieser sehr geringen Tiefe des Stiches eine Entwicklung eintritt, hört bei Mischkulturen in tieferen Schichten der Gelatine die Entwicklung der Kolonien bald auf, dagegen kommen diese an der Oberfläche oder dicht unter derselben zur besten Ausbildung.

Was die Ernährung der beiden Algen anbetrifft, so sei zunächst erwähnt, dass dieselben sowohl auf schwach alkalischen wie auch auf schwach sauren Nährböden mit ziemlich gleichem Erfolge gezogen werden können. Besonders geeignet erwies sich die Bierwürzelatine.

Von natürlichen Nährsubstraten sind als vorzügliche Nährböden auch gekochte Kartoffeln, vor Allem aber gekochte Mohrrüben hervorzuheben. Auch Milch eignet sich zur Ernährung dieser Algen scheinbar besser, als bei den Arten der Gattung *Prototheca*.

Die Hauptaufgabe der Ernährungsversuche bestand aber auch hier darin festzustellen, welche Substanzen sich als Kohlenstoff- und Stickstoffquellen eignen. Zur Prüfung der ersteren Fragen sind hier ganz so wie bei *Prototheca* neben Pepton und Nährsalzen eine Reihe von Kohlehydraten und mehrwerthigen Alkoholen verabreicht.

Eine Deckung des Kohlenstoffbedarfs auf Kosten des Peptons findet auch bei den vorliegenden Algen nicht statt. Die Deckung geschieht hier entweder unter mässiger Entwicklung durch die Assimilation der Kohlensäure, weit ausgiebiger jedoch durch gewisse Kohlenstoffverbindungen, deren Verabreichung eine kräftige und schnelle Entwicklung zur Folge hat. Von diesen Kohlenstoffverbindungen erweisen sich für *Chlorella protothecoides* wie bei *Prototheca Zopfii* besonders geeignet Traubenzucker, Galactose und Glycerin, augenscheinlich weniger dagegen — was aus der Entwicklung und Färbung der Masse, sowie der Grösse der Sporangien ersichtlich ist — Maltose, Dextrin und Milchzucker, während dem Rohrzucker, Inulin und Mannit in dieser Beziehung kein Werth

beizumessen ist. Auf *Chlorothecium saccharophilum* üben die günstigsten Wirkungen aus Traubenzucker und Mannit, weniger gut nähren Maltose, Dextrin, Galactose und Milchzucker; Rohrzucker, Inulin und Glycerin dagegen gar nicht.

Auch bei der Prüfung der Fragen: Aus welchen Stoffen decken die Algen ihren Stickstoffbedarf? wurden wie bei *Prototheca* neben Traubenzucker und Nährsalzen Stickstoffverbindungen in der verschiedensten Form verabreicht und zwar neben den organischen Verbindungen Pepton, Asparagin und weinsaurem Ammoniak, anorganische Ammoniak- und salpetersaure Salze.

Als bemerkenswerth ist aus diesen Versuchen hervorzuheben, die reichliche Bildung von Fett bei den Versuchen ohne Stickstoff gaben, worin sich die untersuchten Organismen untereinander sowie mit *Prototheca Zopfii* ganz gleich verhalten. Ein Unterschied zeigt sich jedoch unter diesen Verhältnissen in der Entwicklung, nämlich derartig, dass bei *Prototheca Zopfii* eine ziemlich gute Entwicklung vor sich geht, während dieselbe bei *Chlorella protothecoides* weniger reichlich und endlich bei *Chlorothecium saccharophilum* äusserst gering oder fast Null ist. Ein weiterer Unterschied der drei Organismen macht sich ferner in dem Verhalten zu den verabreichten Stickstoffverbindungen bemerkbar; *Prototheca Zopfii* und *Chlorella protothecoides* können, wie aus der Grösse und dem Inhalt der Sporangien hervorgeht, salpetersaure Salze nicht assimiliren, wohl ist dieses dagegen der Fall bei *Chlorothecium saccharophilum*. Die jedenfalls auf Kosten des Traubenzuckers eintretende Säuerung tritt um so eher hervor, je ausgiebiger die Entwicklung sich auf Kosten der beigegebenen Stickstoffverbindungen vollzieht, also je geeigneter die letzteren sich für die Ernährung erweisen.

Hervorzuheben ist ferner noch, dass bei *Chlorella protothecoides* in Flüssigkeiten sowohl, wie auf festen Nährböden ohne assimilirbaren Stickstoff, also auch bei Verabreichung salpetersaurer Salze die entwickelte Masse mit der Zeit vollständig farblos wird.

Auch eine Prüfung des Einflusses der Concentration nährender Verbindungen auf das Wachstum der Algen wurde vorgenommen.

Aus diesen Versuchen ergibt sich, dass mit zunehmender Concentration die Masse und Grösse der Algenzellen resp. Sporangien abnimmt, und dass die Säuerung, wo solche überhaupt aufzutreten pflegt, allmählich schwächer wird und zuletzt ganz unterbleibt. Eine Ausnahme bildet das Asparagin, wo die Algen in concentrirter Lösung sich noch reichlich entwickeln und das Dextrin, wo die Zellen vakuolenreich werden, an die Ober-

fläche gelangen und hier wahrscheinlich Kohlensäure assimiliren. Von den geprüften Salzen, nämlich weinsaurem Ammoniak, salpetersaurem Ammoniak und schwefelsaurem Ammoniak, sowie von dem angewandten Nährsalzgemisch vertragen die Algen bis 5 Prozent oder höchstens etwas mehr. Da auf Zuckerlösungen mit zunehmender Concentration, speciell auf Lösungen des nicht nährenden Rohrzuckers (bei *Chlorella* auch des Glycerins) die Algenmasse lebhaft grün wird, so ist Verdacht vorhanden, dass die Entwicklung hier auf Kosten der Kohlensäureassimilation stattfindet, so dass keine Rückschlüsse auf die Concentrationsgrenze des Wachstums zulässig sind.

Endlich wurde auch hier eine Reihe anorganischer Salze ohne Rücksicht auf ihren Nährwerth bezüglich ihrer Einwirkung in verschiedenen Concentrationen auf das Wachstum der beiden Algen geprüft.

Die entwickelte Masse zeigte sich in allen Versuchen bei den beiden Algen gelblich bis gelblichgrün, wie wir es auch sonst bei Ernährung mit Traubenzucker schon kennen gelernt haben. Am wenigsten gefärbt und dabei fast rein gelb war dieselbe bei *Chlorella protothecoides*, während sie bei *Chlorella saccharophilum* mehr eine gelbgrüne Farbe hatte.

Es ergab sich bezüglich der angewandten anorganischen Salze, dass die Concentrationsgrenze des Wachstums der beiden Algen mit 10 % theils erreicht, theils schon überschritten ist. Eine Ausnahme bildet die schwefelsaure Magnesia, in deren 10 % iger Lösung die Algen noch ziemlich gut gedeihen. Im Vergleich zu anderen niederen Organismen zeigt sich, dass die Concentrationsgrenze des Wachstums der untersuchten Algen ziemlich niedrig gelegen ist. Die Concentrationsgrenze der Chloride liegt übrigens noch niedriger, als die der Phosphate und Sulphate. Ferner ersieht man, dass mit zunehmender Concentration die Zellen und Sporangien im Allgemeinen kleiner werden und die Säuerung, wo sie überhaupt auftritt, schliesslich unterbleibt.

Was die zur Ausscheidung kommenden Stoffwechselprodukte anbetrifft, so ist in dieser Beziehung hier ebenfalls nur die in Zuckerlösungen (Traubenzucker, Galactose) auftretende Bildung einer Säure, deren Natur ich bis jetzt noch nicht feststellen konnte, hervorzuheben. Dagegen trat weder auf den verschiedenartigen im Laufe der Zeit zur Verwendung gekommenen Gelatinenährböden, noch auf einer speciell für diesen Zweck präparirten Gelatine ohne Peptonzusatz Peptonisirung ein, so dass die Annahme gerechtfertigt erscheint, dass kein Gelatine peptonisirendes Ferment von den untersuchten Algen abgeschieden wird. Aber auch kein diastatisches Ferment wird gebildet, denn wenn man eine neben Pepton und

Nährsalzen Stärkemehl enthaltende saure oder neutrale Gelatine in Schälchen ausgiesst und dieselbe mit den Algen impft, so lässt sich zu keiner Zeit, wie man mit Jodlösung in bekannter Weise nachweisen kann, eine Umwandlung der Stärke erhalten. Also in Bezug auf Peptonisirung und Bildung von Diastase verhalten sich die vorliegenden Algen ganz so negativ wie *Pr. moriformis* und *Pr. Zopfii*.

Wenn ich nun hierauf die wichtigsten Resultate der vorstehenden mit den Algen angestellten physiologischen Versuche zusammenstellen soll, so würde in erster Linie die Thatsache hervorzuheben sein, dass *Chlorella protothecoides* und *Chlorothecium saccharophilum* sich von organischen Substanzen zu ernähren im Stande sind, und dass diese Ernährung einen besonders günstigen Einfluss auf das Wachstum auszuüben vermag, während die Kultur in blossem Wasser mit Nährsalzen bei weitem kein so günstiges Ergebniss liefert. Zu einem ähnlichen Resultat ist auch Beyerinck in Beziehung auf andere Algenvertreter gelangt. — Was nun die Frage anbelangt: Welchen Nährwerth haben die einzelnen organischen Substanzen? so sind folgende Resultate gewonnen worden.

Von Kohlehydraten und mehrwerthigen Alkoholen ernähren am besten

bei *Chlorella protothecoides* Traubenzucker, Galactose und Glycerin,

bei *Chlorothecium saccharophilum* Traubenzucker und Mannit;

weniger gut

bei *Chlorella protothecoides* Dextrin, Maltose und Milchzucker,

bei *Chlorothecium saccharophilum* Dextrin, Maltose, Galactose und Milchzucker;

garnicht

bei *Chlorella protothecoides* Rohrzucker, Mannit und Inulin,

bei *Chlorothecium saccharophilum* Rohrzucker, Glycerin und Inulin.

Beyerinck dagegen fand für seine Algen (*Scenedesmus acutus* Meyen, *Chlorella vulgaris* Beyerinck, *Chlorosphaera limicola* B. und *Cystococcus humicola* aus *Physcia parietina*), dass nicht allein Glucose, Laevulose und Maltose, sondern selbst Rohrzucker aufgenommen wird.

Wie für gewisse Beyerinck'sche, so ergab auch für meine Objekte die Ernährung mit Kohlenstoffverbindungen auffällige Vergrösserung der Zellen und Sporangien, die etwa bis auf's doppelte bis dreifache

des Durchmessers stieg, desgleichen trat die Intensität der Chlorophyllbildung in gut nährenden Verbindungen dieser Art bedeutend zurück.

Die Ernährung mit Stickstoffverbindungen in verschiedener Form ergab Folgendes:

- bei *Chlorella protothecoides* findet ohne Verabreichung von Stickstoff nur eine mässige,
- bei *Chlorothecium saccharophilum* nur eine äusserst geringe Entwicklung statt.

Die Zellen werden dabei auffallend klein und fettreich.

Ihren Stickstoffbedarf können decken:

- Chlorella protothecoides* aus Pepton, Asparagin und Ammoniaksalzen,
- Chlorothecium saccharophilum* aus den genannten Stoffen und Nitraten.

Die Versuche Beyerinck's, die leider nur mit Gelatinemischungen und nicht mit Nährflüssigkeiten angestellt, also nicht ganz exakt sind, ergaben, dass für die oben genannten vier Species nur Peptone als Stickstoffnahrung in Betracht kommen, er führt noch an, dass *Scenedesmus acutus* und *Chlorella vulgaris* durch Ammoniaksalze und Nitrate nicht ernährt werden, für letztere Species auch Asparagin nicht nährend wirke.

Auch der sonstige Inhalt veränderte sich unter diesen Verhältnissen ziemlich auffällig, insofern er grobkörnige Beschaffenheit annahm. Die Gelatine sich als Nährstoff durch Peptonisierung nutzbar zu machen, wie zwei der Beyerinck'schen Algen es thaten, vermochten die von mir untersuchten Species nicht, auch wenn sie keine sonstige Stickstoffquelle zur Verfügung hatten.

Als eine anaerobische Form, wie sie Beyerinck in seiner *Chlorosphaera limicola* gefunden hat, ist keine meiner beiden Algen anzusprechen. Auch ein diastatisches Ferment wird nicht abgeschieden.

Ich darf endlich wohl noch darauf hinweisen, dass ich aus dem Saftfluss der Laubbäume noch verschiedene andere, niedere Organismen isolirt habe, die vom physiologischen Standpunkte aus ein gewisses Interesse besitzen und die ich daher, falls die Verhältnisse es gestatten sollten, weiter zu untersuchen gedenke.

Auch sei es mir hier gestattet, Herrn Prof. W. Zopf, der mir mit Rath und That zur Seite stand und in dessen Laboratorium die Arbeit zur Ausführung kam, meinen Dank ergebenst abzustatten.

Zum Schluss gebe ich die Diagnose der vorstehend beschriebenen Organismen.

**Prototheca nov. gen.**

Pilze ohne Mycel und Sprossbildung. In meist runden, ovalen oder ellipsoidischen Sporangien werden durch succedane Theilungen des Inhalts eine Anzahl Sporen erzeugt, die durch Aufspringen des Behälters oder Lösen der Membran desselben frei werden, aber niemals schwärmen. Die entleerten Sporen bilden sich wiederum zu einem Sporangium heran.

Eine Gattung, die weder bei den niederen Ascomyceten (Saccharomyceten) noch bei den niederen Phycomyceten (Chytridiaceen) ihren Anschluss findet, sondern wir haben es hier mit einer bis jetzt allein stehenden Gattung mycelloser Pilze zu thun, die einzelnen Gliedern der chlorophyllführenden Reihe der Thallophyten den Protococcaceen unter den einzelligen Algen selten nahe steht und dazu eine Parallelgruppe bildet. Bis jetzt nur in Saft- resp. Schleimflüssen der Laubbäume.

**Prototheca moriformis nov. spec.**

Morphologisch. Oberflächliche Kolonien auf gewöhnlicher Traubenzucker-Nährgelatine milchweiss, glänzend; eingeschlossene Kolonien maulbeerartig, meist rund. Impfstriche meist gewölbt mit glatten Conturen und glatter zonenloser Oberfläche. Masse stark schleimiger, fadenziehender Natur. Sporangien meist ellipsoidisch, oval oder selten kugelförmig. Grösse nach der Ernährung sehr verschieden, circa 13–15  $\mu$  im grössten Durchmesser. Entleerung durch einen Riss im Aequator. Sporen nie schwärmend. Membran dünn, farblos, deutlich zweischichtig, innen aus einer Celluloselamelle, aussen aus einer schleimartigen Schicht gebildet; erstere färbt sich nach Behandlung mit Chlorzinkjod, sowie mit Jod und Schwefelsäure, löst sich aber in Kupferoxydammoniak nicht. Die Pole der Membran färben sich mit Dahlia und Hämatoxylin nach Grenacher intensiver. Inhalt mehr gleichartig, ohne einen mit Jod-Jodkalium sich rothbraun färbenden Körper.

Physiologisch. Von stickstofffreien Kohlenstoffverbindungen ernähren: Traubenzucker, Galactose (Milchzucker, Maltose, Dextrin) und Glycerin. Den Stickstoffbedarf kann der Pilz (ausser aus der Luft) aus Pepton, Asparagin, weinsaurem Ammoniak und anorganischen Ammoniaksalzen, nicht aus salpetersauren Salzen decken. Es wird von dem Pilz weder ein peptonisirendes noch ein diastatisches Ferment gebildet. Luftbedürfniss sehr ausgeprägt. Der Wärmetod bei Anwendung feuchter Wärme liegt bei 52–53°, bei Anwendung trockener Wärme bei 70–75 (85–90°). Die Wachstumsgrenzen liegen: Minimum bei 6–10°, Optimum bei 29–31° und Maximum bei etwa 38°. Eine Kälte von –83° bringt den Pilz bei vierstündiger Einwirkung nicht zum Absterben.

Vorkommen: In Lindenflüssen bei Jena und in Flüssen der Rosskastanie im botanischen Garten zu Halle a. S.

*Prototheca Zopfii* nov. spec.

Morphologisch. Kolonien ebenfalls weiss, matt oder nur wenig glänzend und unregelmässiger. Impfstiche flach, von mehr hefeartigem Wuchs, mit krenulirtem Rande und concentrischer Zonenbildung. Masse weniger schleimig und daher nicht fadenziehend. Sporangien fast stets exakt kugelförmig, circa 14—16  $\mu$  im Durchmesser. Sporen nie schwärmend, häufig zu maulbeerartigen Gruppen vereinigt austretend. Membran ebenfalls dünn, farblos und zweischichtig, doch färbt sich die Innenlamelle mit Chlorzinkjod nicht, mit Jod und Schwefelsäure nur schwach gelb und löst sich ebenfalls nicht in Kupferoxydammoniak. Differente Tinktionen mit Dahlia und Hämatoxylin treten nicht auf. Inhalt starkkörniger Natur und häufig mit Fetttropfen, ferner mit einem durch Jod sich rothbraun färbenden Körper (Kohlehydrat?).

Physiologisch. Ernährung, wie bei *Pr. moriformis*, doch bildet sich ohne Verabreichung von aufnehmbaren Stickstoffverbindungen reichlich Fett in den Zellen. Luftbedürfniss und Fermentbildung wie bei *Pr. moriformis*. Der Wärmetod ist bei Anwendung feuchter Wärme bei 45—46°, bei Anwendung trockener Wärme bei 65—66° gelegen. Eine Kälte von —83° bringt den Pilz bei vierstündiger Einwirkung nicht zum Absterben. Als Wachstumsgrenzen ergeben sich für den Pilz: Minimum bei 6—10°, Optimum bei etwa 25° und Maximum bei etwa 30°.

Vorkommen: In Saftflüssen der Ulme bei Halle a. S. (Rabeninsel, Peissnitz etc.).

**Chlorella Beyerinck.**

Einzellige grüne, zu den Pleurococcaceen gehörige Algen, mit kugeligen, ellipsoidischen oder abgeplatteten Zellen von 1—6  $\mu$  Mittellinie, gewöhnlich mit nur einem Chromatophor von der Gestalt einer Kugelsegmentschale; Pyrenoid undeutlich oder fehlend. Im Lichte entsteht unter Sauerstoffentwicklung aus Kohlensäure Paramylum, welches sich mit Jod braun färbt. Zellkern meist einfach, bisweilen in Zweizahl, von wechselnder Grösse, nur aus Chromatin bestehend. Die Vermehrung beruht auf freier Zellbildung durch successive Zweitheilung. Die Theilprodukte kommen frei durch Platzen der Wand der Mutterzelle; sie können sehr verschieden sein in Grösse ( $\frac{1}{2}$ —4  $\mu$ ). Schwärmosporen fehlen vollständig. In süssem und salzigem Wasser, wahrscheinlich auch auf dem Lande.

*Chlorella protothecoides* nov. spec.

Morphologisch. Kolonien gelblich bis mattgrün, matt oder nur wenig glänzend. Impfstiche flach, mit krenulirtem Rande, auf



Bierwürzegeelatine und anderen nährenden Substraten anfangs gelb, später grün. Masse nicht oder doch nur wenig schleimig. Sporangien fast stets exakt kugelförmig, etwa  $15 \mu$  im Durchmesser bei guter Ernährung, sonst bedeutend kleiner und je nach der Ernährung in Grösse bedeutend wechselnd. Sporen nie schwärmend, häufig zu maulbeerartigen Gruppen vereinigt austretend. Membran dünn, farblos und zweischichtig, doch färbt sich die Innenlamelle mit Chlorzinkjod nicht, mit Jod und Schwefelsäure nur schwach gelb, auch löst sie sich in Kupferoxydammoniak nicht. Inhalt starkkörniger Natur bei Verabreichung von Stoffen, die als gute Kohlenstoffquellen dienen; dagegen homogen, wenn der Kohlenstoffbedarf durch Assimilation von Kohlensäure gedeckt werden muss. Besonders im ersteren Falle bildet sich der bei *Prototheca Zopfii* erwähnte Körper, der sich durch Jod rothbraun färbt.

Physiologisch. In ihrem physiologischen Verhalten stimmt diese Alge fast ganz mit *Prototheca Zopfii* überein.

Vorkommen. In Saftflüssen von Pappeln und Ulmen in der Umgebung von Halle a. S. und wie es scheint auch weiter verbreitet (Döllnitz im Elsterthal, Raschewitz in Schlesien).

### **Chlorothecium nov. gen.**

Sporangien ellipsoidisch oder eiförmig, selten kreisrund. Chlorophor flacher als bei *Chlorella*.

#### *Chlorothecium saccharophilum nov. spec.*

Morphologisch: Kolonien dunkelgrün, matt. Impfstiche flach, Oberfläche mit zahlreichen kleinen Höckern, auch auf gut nährendem Substrat (Bierwürzegeelatine) von Anfang an ziemlich dunkelgrün. Masse nicht schleimig. Sporangien fast stets ellipsoidisch, wenigstens dann, wenn keine, als Kohlenstoffquelle dienende organische Verbindung verabreicht wird. Bei guter Ernährung zeigen die Sporangien etwa einen Durchmesser von  $17 \mu$ , sonst sind sie ebenfalls bedeutend kleiner. Sporen nie schwärmend, einzeln austretend oder doch nicht zusammenhängend. Die Membran färbt sich mit Chlorzinkjod nicht, mit Jod und Schwefelsäure nur schwach gelb, auch löst sie sich in Kupferoxydammoniak nicht und unterscheidet sich von derjenigen von *Prototheca Zopfii* und *Chlorella protothecoides* dadurch, dass sie das Vermögen, Farbstoffe zu speichern, nur in geringem Masse besitzt. Der Inhalt ist auch bei dieser Alge starkkörniger Natur, sobald eine Ernährung mit guten Kohlenstoffquellen vorliegt, dagegen ebenfalls mehr homogen, wenn der Kohlenstoffbedarf durch Kohlensäureassimilation gedeckt werden muss. Im ersteren Falle ist der Chlorophor nicht oder kaum wahrnehmbar, im letzteren dagegen mehr oder minder scharf begrenzt und lebhaft

grün gefärbt. Auch bildet sich bei guter Ernährung der bei *Chlorella protothecoides* und *Prototheca Zopfii* erwähnte Körper, der sich mit Jod rothbraun färbt.

Physiologisch. Von stickstofffreien Kohlenstoffverbindungen ernähren besonders Traubenzucker und Mannit, weniger günstig erweisen sich Maltose, Dextrin, Galactose und Milchzucker, während Rohrzucker, Inulin und Glycerin nicht nähren. Ihren Stickstoffbedarf kann diese Alge aus Pepton, Asparagin, weinsaurem Ammoniak und anorganischen Ammoniak- und salpetersauren Salzen decken, nicht aber aus der Luft. Wird kein Stickstoff verabreicht, so bildet sich reichlich Fett. Weder ein peptonisirendes noch ein diastatisches Ferment kommt bei dieser Alge zur Abscheidung. Luftbedürfniss ebenfalls sehr ausgeprägt. Der Wärmetod bei Anwendung feuchter Wärme liegt bei 44–45°, bei Anwendung trockener Wärme bei 66–67°. Als Wachstumsgrenzen ergeben sich: Minimum höher als 5–6°, Optimum 27°, Maximum 30–31°. Eine Kälte von –83° bringt die Alge bei vierstündiger Einwirkung nicht zum Absterben.

Vorkommen. Bis jetzt nur in Saftflüssen der Pappel. Eine nahe verwandte Art isolirte ich aus verschiedenen Flüssigkeiten (Schwefelsäure Magnesimalösung, aus Wasser mit faulenden Kartoffeln etc.)

Halle a. S., April 1894.

---

# ZOBODAT - [www.zobodat.at](http://www.zobodat.at)

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Hedwigia](#)

Jahr/Year: 1894

Band/Volume: [33\\_1894](#)

Autor(en)/Author(s): Krüger W.

Artikel/Article: [Kurze Charakteristik einiger niederer Organismen im Saftflusse der Laubbäume. 241-266](#)