

Kulturversuche mit einigen niederen Volvocaceen.

Von

H. C. Jacobsen. — Delft.

Mit Tafel 2.

LIBRARY
NEW YORK
BOTANICAL
GARDEN.

1. Einleitung.

Beim Studium der niederen Algen ist ihr Verhalten organischen Substanzen gegenüber von großer Wichtigkeit. Beijerinck(1), der die ersten Reinkulturen von einzelligen Grünalgen (*Chlorella vulgaris*, *Chlorosphaera limicola*, *Scenedesmus acutus*, *Cystococcus humicola*, *Stichococcus major* u. a.) anfertigte, hat schon damals auf die Bedeutung der organischen Nahrung hingewiesen. Augenscheinlich ist für die meisten grünen, CO₂-assimilierenden Organismen die Ernährung mit organischen Substanzen überflüssig, und viele Arten können sogar die geringsten Spuren derselben nicht ertragen; viele andere aber, und insbesondere die oben genannten, gedeihen sehr gut in organischen Medien. Wieder andere können sich, ähnlich wie die Bakterien, rein saprophytisch im Dunkeln ernähren. Schließlich kann man eine Gruppe von grünen Organismen unterscheiden, für welche organische Nahrung ein Bedürfnis ist. Zu dieser Gruppe, welche bis jetzt nur wenige Repräsentanten hat, kann man die Gonidien der Flechten rechnen, die aber doch als freilebende Individuen in der Natur sich autophytisch ernähren können.*)

*) In bezug auf die Ernährungsweise unterscheide ich, wie üblich:

- a) autotrophe Pflanzen, welchen der Kohlenstoffbedarf durch die Kohlensäure-assimilation völlig gedeckt wird;
- b) mixotrophe Pflanzen, bei welchen diese nicht zureicht und ergänzt werden muß durch Aufnahme von gelösten organischen Substanzen;
- c) heterotrophe (saprophytische) Pflanzen, welche sich ausschließlich auf letztere Weise ernähren.

Vergl. Pfeffer, W. Pflanzenphysiologie. 1, 349.

Im folgenden handelt es sich um einige niedere Volvocaceen: *Chlorogonium euchlorum*, *Chlamydomonas variabilis*, *Chlamydomonas Ehrenbergii*, *Chlamydomonas intermedia*, *Carteria ovata spec. nov.*, *Spondylomorom quaternarium* und *Polytoma uvella*, deren Kultur- und Ernährungsbedingungen besonders in bezug auf die organische Nahrung sich als sehr interessant erwiesen haben.

Auf Grund meiner Versuche kann gesagt werden, daß bei der Gattung *Chlorogonium* die autotrophe Lebensweise schon bedeutend zurückgetreten ist und diese Alge auffallend besser gedeiht bei kombinierter Nahrung, d. h. wenn die Assimilations-tätigkeit im Lichte durch Ernährung mit organischen Verbindungen ergänzt wird (mixotroph.). Unter Umständen kann sich *Chlorogonium* auch ausschließlich im Dunkeln bedeutend vermehren.

Chlamydomonas variabilis und *Carteria ovata* sind hinsichtlich ihrer Ernährung anspruchsvoller und geben in rein anorganischen Medien im Lichte nur ein sehr dürftiges oder kein Wachstum, ebenso im Dunkeln bei ausschließlich organischer Ernährung. Schöne Kulturen dagegen werden erhalten, wenn Licht und organische Substanzen zusammen vorhanden sind.

Die beiden andern Arten, *Chlamydomonas Ehrenbergii* und *Chlamydomonas intermedia* ernähren sich ganz gut autotroph; die erstere aber wächst in organischen Flüssigkeiten weniger gut als letztere und nähert sich den echten Autophyten dieser Gattung. Im Dunkeln wurde bei diesen Arten kein Wachstum beobachtet.

Spondylomorom quaternarium läßt sich in bezug auf ihre Ernährung ganz mit *Chlamydomonas variabilis* vergleichen; bei rein autotropher Ernährung ist das Wachstum nur sehr schwach, und im Dunkeln bei Gegenwart von organischen Verbindungen entwickelt sie sich gar nicht.

Bei der letztgenannten Art, *Polytoma uvella*, bei welcher das Chlorophyll ganz oder fast gänzlich fehlt, ist die Autotrophie wahrscheinlich gar nicht mehr vorhanden. Dieser Organismus ernährt sich immer in ganz analoger Weise wie die Bakterien. Folgende Tabelle veranschaulicht die Intensität des

Wachstums, wenn die betreffenden Algen unter den 3 verschiedenen Ernährungsbedingungen kultiviert werden.

A r t e n	Wachstum		
	wenn die Ernährung ist		
	autotroph	mixotroph	heterotroph
Chlorogonium euchlorum	ziemlich gut	stark	schwach
Chlamydomonas variabilis	schwach	„	kein
„ Ehrenbergii	gut	„	„
„ intermedia	ziemlich gut	„	„
Carteria ovata sp. n.	kein	„	„
Spondylomorom quaternarium	schwach	„	„
Polytoma uvella	kein	„	stark

Bei meinen Kulturversuchen ist von der Fähigkeit dieser Organismen Gebrauch gemacht worden, in faulenden und anderen organischen Lösungen gut gedeihen zu können. Diese Eigenschaft wurde für Chlorogonium euchlorum zufällig entdeckt und hat sich als sehr wichtig für deren natürliche Lebensbedingungen erwiesen.

Daß grüne Algen sich in verdorbenem Wasser in der Natur häufig vorfinden, ist eine bekannte Tatsache, und Ehrenberg(2) zählt neben anderen Volvocaceen auch Chlamydomonas pulvisculus und Chlorogonium euchlorum zu den Organismen, welche die grüne Farbe stagnierender Gewässer hervorrufen können. Auch Beijerinck(1) fand im Schlamm von schmutzigem Grabenwasser als steten Bewohner eine interessante Grünalge, die er Chlorosphaera limicola genannt hat, und die in mancher Hinsicht mit Chlamydomonas Ähnlichkeit zeigte. Das Fehlen von contractilen Vacuolen und des Augenflecks jedoch ergaben, daß diese Gattung nicht zu den Volvocaceen zu rechnen war.

Ein sehr häufig vorkommender Organismus, welcher unsere Schmutzwässer intensiv grün färben kann, ist Euglena. Zumstein(3), der von Euglena angibt, daß sie der am meisten charakteristische Bewohner der Mistpfützen der Dörfer und der Viehweiden, faulender Sümpfe usw. ist, hat eine Art: Euglena gracilis Klebs in ernährungsphysiologischer Hinsicht genau untersucht.

Seine Beobachtungen an dieser Art gehen gewissermaßen parallel mit den meinigen an Chlorogonium u. a. und es kann gesagt werden, daß die Ernährung mancher Euglenen mit derjenigen der hier beschriebenen Volvocaceen stark übereinstimmt.

Weitere Angaben über Ernährung mit organischen Substanzen und zwar von einer der hier beschriebenen Arten, von *Polytoma uvella*, findet man bei Ogata(4). Dieser Forscher beschreibt eine Methode zur Reinkultur gewisser Protozoen. Zu diesem Zweck benutzt er Kapillarröhrchen von bestimmter Dimension, welche teilweise mit sterilisierter Nährlösung und weiter mit einer infusorienhaltigen Flüssigkeit gefüllt wurden, ohne daß Luft hineindrang; dann wurden beide Enden des Rohres zugeschmolzen. Auf Grund der größeren Beweglichkeit der Infusorien war er imstande, *Polytoma uvella* durch Abbrechen eines Stückchens der Kapillare in Reinkultur zu bekommen, und zwar in einer bestimmten organischen Nährlösung. Diese Kapillarrohr-Methode habe ich in Verbindung mit Plattenkulturen angewandt zur Trennung und Reinkultur einiger der hier untersuchten Arten, und habe ferner dabei Gebrauch gemacht von der Empfindlichkeit, welche diese Organismen dem Lichte gegenüber zeigen. Für die Reinkultur von *Polytoma uvella* schien mir die Kapillarrohr-Methode überflüssig; gelingt sie doch leicht, wie auch Ogata angibt, auf festem Nährboden.

Klebs(5) erhielt Reinkulturen einer Chlamydomonade, die er *Chlamydomonas media* nennt, indem er einzelne Individuen isolierte und sie in 0,2 proz. Knopscher Nährlösung weiterzüchtete. Auch in einer Zuckerlösung von 2⁰/₀ konnte er die Teilungen bei dieser Art beobachten; letztere wurden sogar durch Zuckerzusatz bei Kultur im Dunkeln befördert. Andere organische Substanzen hat er für die Kultur von *Chlam. media* nicht benutzt.

Frank(6) berichtet über eine Chlamydomonade: *Chlam. tingens*. Er kultiviert diesen Organismus in Knopscher Nährlösung und bekommt auch auf festen Nährböden wie Lehm, Agar und Tonplättchen starkes Wachstum. Bakterienfreie Kulturen hat er aber auf diese Weise nicht erhalten. Weiter beschreibt er das Verhalten der schwärmenden Individuen im Licht und im Dunkeln. Er beobachtete an diesen die schon früher von Famintzin(9), Strasburger(7) und Stahl(8) bei *Chlamydomonas* und anderen Organismen aufgefundene Tatsache, daß dieselben sich sowohl positiv als auch negativ phototaktisch erweisen können und einen Ort der günstigsten Lichtintensität aufsuchen, um da zu ver-

bleiben und in den Ruhezustand überzugehen. Diese Eigenschaft der Phototaxis, welche sich für die genannten Volvocaceen außer *Polytoma uvella* nachweisen ließ, kann, wie schon gesagt, zur Trennung und Reinigung der Arten dienen. Ernährungsversuche mit organischen Verbindungen hat Frank nicht angestellt.

Die von Klebs, Frank und auch von Artari(10) studierten Chlamydomonaden hatten offenbar alle das Vermögen, sich autophytisch zu vermehren; denn sie ließen sich ja in Knopscher Nährlösung züchten. Über ihr Verhalten organischen Substanzen gegenüber ist nur wenig zu finden. Vermutlich gehören sie, wie es für eine neulich von Beijerinck aus Schlamm isolierte Art festgestellt wurde, zu einer Gruppe, die nur wenig organische Substanzen verträgt, und für die auch die organische Nahrung kein Bedürfnis ist, im Gegensatz zu den von mir kultivierten, zu der mixotrophen Gruppe gehörenden Arten.

Die hier beschriebenen Versuche, die sich teilweise an Beijerincks Anhäufungsversuche anreihen, geben zum Auftreten sehr bestimmter Formen Anlaß. Diesen Versuchen liegt denn auch eine allgemeine Frage zugrunde und zwar: Welche grünen Organismen kann man im Licht und bei Gegenwart von organischen Verbindungen in verschiedenartigen Substraten zur Kultur bringen?

Wie man in Lösungen von Leitungswasser mit 0,02 % K_2HPO_4 (11) nach Impfung mit Gartenerde im Licht stickstoffbindende Kulturen erhält, in welchen Cyanophyceen massenhaft auftreten, und wie in ähnlichen Flüssigkeiten bei Zusatz von 0,02 % NH_4NO_3 verschiedene Repräsentanten der Chlorophyceen gedeihen, so gelingt es, wie in den zu beschreibenden Versuchen gezeigt werden wird, mit ziemlicher Sicherheit, gewisse Volvocaceen in Kultur zu bringen und weiter zu züchten.

Weil diese Algen, die wohl allgemein verbreitet, aber doch nicht immer gerade vorhanden sind, sowohl in morphologischer als physiologischer Hinsicht (Ernährung, Beweglichkeit, Reizwirkungen usw.) sehr interessante Versuchsobjekte abgeben, so ist es wichtig, sie bequem kultivieren oder aus der Natur neu isolieren zu können. Bei meinen Versuchen habe ich weniger Wert gelegt auf die morphologischen Eigentümlichkeiten dieser Organismen, als vielmehr auf ihre physiologischen Eigenschaften.

2. Anhäufungsversuche mit faulenden Eiweißkörpern.

a) Die ersten Untersuchungen mit Fibrin.

Als ich im Mai 1904 die anaëroben Fäulnisorganismen studierte, stieß ich bei einem der zu diesem Zwecke angestellten Versuche zu meinem Erstaunen auf eine Grünalge, die sich massenhaft in der betreffenden Kultur angehäuft hatte. Das erschien deshalb merkwürdig, weil die Kultur im Dunkeln bei Luftabschluß und einer Temperatur von 35° C gehalten worden war. Die Einrichtung des Versuches war kurz folgende:

In einer Stöpselflasche von ca. 50 ccm Inhalt wurde eine reichliche Menge gewöhnliche Gartenerde mit 1 g Blutfibrin vermischt, darauf die Flasche mit Leitungswasser ganz gefüllt und verschlossen in den Brutschrank bei 35° C gestellt. In kurzer Zeit wurde der eintretende Fäulnisprozeß an dem widerlichen Geruch bemerklich, während gleichzeitig eine große Menge Bakterien, Sporenbildner u. a. sich zeigte. Nach fünf Tagen war der Inhalt der Flasche besonders an der Oberfläche der Flüssigkeit — denn durch die stattfindende Gärung war etwas Flüssigkeit hinausgepreßt worden — intensiv grün gefärbt. Unter dem Mikroskop fand sich eine Menge lebhaft beweglicher, großzelliger, grüner Organismen von spindelförmiger Gestalt. Diese konnten leicht als eine Grünalge und zwar als *Chlorogonium euchlorum* Ehrb. erkannt werden.

Die Tatsache, daß dieser Chlorophyll-führende Organismus in dem beschriebenen Versuche so massenhaft sich entwickeln konnte, ist schon ein Beweis dafür, daß er sich, ähnlich wie andere Grünalgen, saprophytisch im Dunkeln ernähren kann. Überdies deutete das Vorkommen in der genannten Kultur auf eine gewisse Vorliebe zu faulenden Flüssigkeiten hin. Es lag nahe zu versuchen, ob man diese Alge, die bei den zahlreichen Versuchsanstellungen, welche im hiesigen Laboratorium schon gemacht worden waren, um Grünalgen in Kultur zu bringen, noch nie beobachtet werden konnte, auf die obige Weise jederzeit wieder erhalten könne.

Als aber der Versuch auf ganz dieselbe Weise nochmals angestellt wurde, bekam ich nur vereinzelte Individuen von

Chlor. euchlorum, die bald zugrunde gingen. Bei einem dritten Versuch traten überhaupt keine grünen Organismen auf, sodaß ich anfangs, das starke Wachstum von Chlorogonium beim ersten Versuche als eine unaufklärliche Zufälligkeit zu betrachten. Auch nach Überimpfen dieser Kultur in eine Flasche mit gekochtem Leitungswasser und 2⁰/₀ Fibrin, war im Dunkeln bei 35⁰ kein Wachstum eingetreten. Dann versuchte ich das Wachstum dieser Grünalge durch Einwirkung des Lichts zu fördern, und in der Tat gelang es, in Bechergläsern von ungefähr 120 ccm Inhalt, gefüllt mit einem gekochten Gemisch von 100 ccm Leitungswasser, 20 g Gartenerde und 1 g Fibrin, die ursprüngliche Kultur durch Überimpfen weiterzuzüchten. Da kein Brutschrank da war, der für die Kulturen im Lichte eingerichtet war, wurden die Bechergläser einfach mit Uhrgläsern bedeckt auf einem mit weißem Papier belegten Tisch vor dem Fenster aufgestellt. Die Temperatur im Zimmer war etwa 18—20⁰. Nach 5—7 Tagen war der Fäulnisprozeß deutlich fortgeschritten und nun färbten sich die Gläser immer intensiver grün. Auf diese Weise war es nun leicht, Chlor. euchlorum weiterzuzüchten. Auch gelang es jetzt immer also bei Luftzutritt und im Lichte, aus der Gartenerde schöne Kulturen dieser Alge zu bekommen. Indessen das massenhafte Auftreten der Alge beim ersten Versuch im Dunkeln war noch nicht aufgeklärt. Alle Versuche, welche ich damals anstellte, um sie wieder auf jene Weise zu bekommen, sind fehlgeschlagen. Vor kurzem ist es aber wieder gelungen, Chlor. euchlorum im Dunkeln anzuhäufen und zwar zu derselben Jahreszeit wie vor 5 Jahren; vielleicht muß man es diesem Umstand zuschreiben, daß die Kultur jetzt wieder denselben Erfolg gehabt hat. Offenbar finden sich zu dieser Zeit im Boden die kräftigsten Individuen von Chlorogonium vor, die sich durch ihre Fähigkeit, sich ausschließlich saprophytisch zu ernähren, auszeichnen. Vielleicht sind auch zuweilen noch andere Bedingungen maßgebend für das Wachstum im Dunkeln.

Wie gesagt, gelang es immer, aus Gartenerde Chlorogonium zu kultivieren. Als aber anderes Substrat für die Kultur verwendet wurde, z. B. Kanal- oder Grabenschlamm, erhielt ich hieraus keine

grünen Organismen. Dagegen stieß ich beim Impfen mit diesem Material immer auf eine farblose Art: *Polytoma uvella* Ehrb. Im Anfang bildete sich wieder an der Oberfläche eine schleimige Haut, nachdem die Flüssigkeit sich durch Bakterien stark getrübt hatte. In dieser Haut fanden sich außer schleimbildenden Bakterien, Infusorien, Monaden, Spirillen und vereinzelt Individuen von *Polytoma uvella*. Nach einiger Zeit jedoch wuchs letztere Art so heran, daß alle anderen Organismen praktisch gänzlich zurücktraten, und sogar die Anzahl der Bakterien im Vergleich zu der Zahl der *Polytoma*-Individuen auffallend gering erschien.

Nach ungefähr 8 Tagen aber färbte sich die schleimige Haut bräunlich und bestand vorwiegend aus *Polytoma uvella*, während die ganze Kultur durch diesen Organismus stark getrübt war. Nach 14 Tagen bis 3 Wochen starben die meisten Individuen ab oder gingen in einen unbeweglichen Zustand über.

Beim Wiederholen dieser Versuche mit den verschiedenen Infektions-Substraten zeigte sich die Fibrin-Methode als sehr zuverlässig, um *Chlor. euchlorum* und *Polytoma uvella* mit Sicherheit in Kultur zu bringen.

Als aber im Monat August desselben Jahres (1904) der Versuch mit Gartenerde wiederholt wurde, blieb *Chlorogonium* völlig aus, dagegen entwickelte sich nach etwas längerer Zeit eine andere Volvocacee zur Gattung *Chlamydomonas* gehörend, welche ich für identisch halte mit *Chlam. variabilis* Dang. Offenbar hatte also in der Erde während der wärmeren Jahreszeit *Chlorogonium* einer Art der Gattung *Chlamydomonas* Platz gemacht, für welche aber die gleichen Kulturbedingungen galten. Im Monat Oktober konnte weder *Chlorogonium* noch *Chlamydomonas* aus Gartenerde hervorgebracht werden.

Die 3 genannten Organismen konnten leicht weiter gezüchtet werden im Lichte, bei Zimmertemperatur, in Bechergläsern, die mit dem pasteurisierten Gemisch von Leitungswasser, Gartenerde und Fibrin gefüllt und mit Uhrgläschen bedeckt waren. Auch sind damals Versuche angestellt worden zur Reinkultur dieser Algen, die für *Chlorogonium* und *Polytoma* gelangen. Die Beschreibung dieser Reinzucht-Methode lasse ich später folgen.

b. Weitere Versuche mit Fibrin und anderen Eiweißkörpern.

Seit November 1908 habe ich mich wieder mit diesen Algenkulturen beschäftigt. Zu dieser Zeit war nur noch eine Kultur von *Chlam. variabilis* im Gange, während *Chlor.* verloren gegangen war. Weil beide Arten sich so sehr zu Demonstrationszwecken eignen, war es von Wichtigkeit, auch letztere wieder in Kultur zu bekommen, überdies schien es erwünscht, sich noch einmal von der Zuverlässigkeit der Fibrinmethode zu überzeugen. In der Tat ist es wieder gelungen, *Chlor. euchlorum* mit Sicherheit aus verschiedenen Erdproben anzuhäufen, ebenso *Polytoma uvella* aus anderen Substraten. Außerdem wurden noch einige andere Arten aufgefunden, welche identifiziert wurden als: *Chlam. Ehrenbergii* Gorosch., *Chlam. intermedia* Chodat und *Spondylomorom quaternarium* Ehrb. Die Einrichtung der Versuche war ungefähr dieselbe wie vor 5 Jahren. 6 Bechergläser (ca. 120 ccm Inhalt) und 6 Stöpselflaschen (100 ccm Inhalt) wurden beschickt je mit etwa 30 g des zu untersuchenden Substrates, 1 g Blutfibrin (Merck) und 100 ccm Leitungswasser. Die 6 Bechergläser wurden mit Uhrgläschen bedeckt und im Lichte bei Zimmertemperatur aufgestellt; die 6 Stöpselflaschen kamen in den Brutschrank bei 35° C. Das Infektionsmaterial, womit die Bechergläser sowie die Flaschen gefüllt wurden, war folgendes:

1. Erde aus dem Garten des Laboratoriums.
2. Blatthumus von einem Misthaufen.
3. Kanalschlamm, welcher sich an einem im Kanal liegenden Holzbalken festgesetzt hatte, und außer verschiedenartigen Diatomeen, Infusorien, Monaden, Grünalgen und Euglenen zeigte.
4. Moder vom Boden des Kanals.
5. Kloakenflüssigkeit, worin *Polytoma uvella*, Spirillen, Infusorien und Monaden gefunden wurden.
6. Schlamm vom Boden eines schmalen Grabens vor dem Laboratorium.

Über die Versuchsreihe der Flaschen im Dunkeln ist wenig zu sagen. In allen Flaschen trat nach wenigen Tagen der Fäulnisprozeß ein, aber in keiner einzigen zeigten sich die hier in Frage kommenden grünen Organismen. Das Resultat der Kulturen im Licht war folgendes:

1. In den ersten Tagen entwickelte sich aus der Gartenerde eine dicke schleimige Bakterienhaut, in welcher sich auch viel Monaden und Infusorien vorfanden. Am 5. Tage wurde *Chlor. euchlorum* wahrgenommen, das sich bei fortschreitender Fäulnis stark vermehrte und schließlich die Flüssigkeit intensiv grün färbte, während alle anderen Organismen außer den Bakterien stark zurücktraten.

2. Aus dem Blatthumus entwickelten sich nur Monaden und Infusorien, aber keine grünen Algen.

3. Aus dem Grabenschlamm wurde nach 6 Tagen eine starke Kultur von *Polytoma uvella* erhalten, die bis zum 9. Tage weiter wuchs und dann allmählich abstarb.

4. Der Kanalmoder zeigte im Anfang sehr schöne Infusorien, hauptsächlich eine *Vorticella*-Art, aber am 5. Tage war *Polytoma uvella* so massenhaft vorhanden, daß die braune Haut, welche die Oberfläche bedeckte, tatsächlich eine Reinkultur lebhafter sich bewegender *Polytoma*-Individuen war.

5. Wie aus dem Kanalmoder, so entwickelte sich aus dem Kloakenwasser eine sehr schöne Kultur von *Polytoma uvella*, auch hier traten im Anfange Monaden und Infusorien auf.

6. Der schwarze Grabenschlamm gab im Anfang eine widerlich riechende Kultur. Eine dicke Bakterienhaut, worin *Monas Okenii*, Monaden, Infusorien und Spirillen sich vorfanden, machte auch hier Platz für ein profuses Wachstum von *Polytoma uvella*.

Wie man also sieht, erschien in dem mehr flüssigen Infektions-Substrat immer *Polytoma uvella*, aus der mehr trockenen Gartenerde entwickelte sich in einem Fall *Chlorogonium*, im anderen keine Grünalgen. Aus dem Schlamm und der Kloakenflüssigkeit ergaben sich im Dunkeln bei Zimmertemperatur (20°), fast immer schöne Kulturen von *Polytoma uvella*. Daß diese Art sich in den Flaschen bei 35° nicht entwickelt hatte, hatte wohl seinen Anlaß in der zu hohen Temperatur sowie auch in der intensiveren Fäulnis und dem Sauerstoffmangel.

Da *Chlorogonium* sich nicht in allen Erdproben vorzufinden schien, wurde an 7 verschiedenen Stellen des Gartens etwas Erde entnommen und damit Fibrinversuche angestellt. Die verschiedenen Proben gaben in bezug auf das Auftreten von *Chlor.* folgendes Resultat:

Erdproben.	Auftreten von Chlorogonium.
1. Oberflächlich, in der Nähe einer Zuckerrübe	+
2. Oberflächlich, von einem Beete mit jungen Pflanzen von <i>Isatis tinctoria</i>	+
3. Unter dünnen Blättern von einem Grundstück mit <i>Fraxinus</i> bepflanzt	—
4. Zwei Dezimeter unter der Oberfläche entnommen	—
5. Unter dünnen Blättern oberflächlich	—
6. Unter dem Rasen bei den Wurzeln nahe der Oberfläche . . .	+
7. Oberflächlich, von einem unbepflanzten Stück	+

Hieraus kann der Schluß gezogen werden, daß diese Art sich in unserm Garten zu einer bestimmten Zeit des Jahres sehr allgemein vorfindet, aber nur an der Oberfläche und nicht da, wo kein Tageslicht durchdringen kann; denn so muß man wohl das Fehlen von Chlorogonium unter den abgefallenen Blättern und in einiger Tiefe erklären.

Am 22. März d. J. wurden diese Versuche wiederholt, um festzustellen, ob auch mit anderen Erdproben ähnliche Resultate zu erzielen wären. Zu diesem Zwecke wurden dreierlei Erdproben verglichen: eine aus dem Laboratoriumsgarten, eine in der Nähe von Delft aus dem Boden an der Seite eines öffentlichen Weges, und eine dritte aus einem Garten in der Nähe von Den Haag.

Gleichzeitig wurden außer Fibrin auch andere unlösliche Eiweißkörper verwendet und zwar: Kleber aus Weizenmehl; Albumin, welches durch Erhitzen in trockenem Zustande unlöslich gemacht worden war, und Kasein, nach der Methode von Hammersten aus Kuhmilch angefertigt. Das Resultat dieser Versuche (siehe untenstehende Tabelle) ist, daß mit anderen Eiweißkörpern auch sehr gute Kulturen von Volvocaceen erhalten werden können. Weiter ist zu bemerken, daß nicht alle Erdproben Repräsentanten dieser Gruppe von Grünalgen enthalten; wenigstens wurde aus der dritten Probe nur *Polytoma uvella* erhalten, aber keine grünen Organismen. Hiermit ist aber der Beweis geliefert, daß *Polytoma uvella* auch in Garten-erde sich vorfindet. Das wichtigste Resultat dieses Versuches ist das Auftreten der ziemlich seltenen Art *Spondylomorom quaternarium*, welche noch nie in den Kulturen beobachtet worden war.

Herkunft der Probe	Aufgefundene Volvocaceen bei Anwendung der Eiweißkörper			
	Fibrin	Albumin	Kleber	Kasein
Laboratoriums- Garten	Chlor. euchl. Spond. quat. Chlam. Ehrenb. Chlam. interm.	Chlor. euchl. Chlam. var. Spond. quat.	Chlor. euchl. Chlam. var. Spond. quat.	Chlor. euchl. Chlam. var. Spond. quat.
Umgegend von Delft	Spond. quat. Chlam. var.	Chlor. euchl.	Chlam. var. Spond. quat.	Chlam. var. Spond. quat.
Garten in der Nähe von Den Haag	Polytoma uvella	o	o	o

Über die Verbreitung dieser Organismen in Bodensorten von verschiedener Beschaffenheit und Herkunft hoffe ich später Versuche anzustellen. Die hier noch zu erwähnenden sind größtenteils mit Erdproben aus einer bestimmten Stelle des Laboratoriumsgartens in Delft angestellt, weil es sich zeigte, daß diese Erde reichliche Mengen der verschiedenen Arten enthält.

Da die Anhäufungsversuche mit Fibrin mit so großer Sicherheit zum Auftreten verschiedener Volvocaceen geführt hatten, lag es nahe zu untersuchen, wie groß die Menge des verwendeten Infektionsmaterials sein mußte, um ein sicheres Resultat zu erzielen. Diesem Zwecke diente eine Versuchsreihe mit Bechergläsern mit zunehmenden Mengen der Erde und zwar: 0,1; 0,5; 1; 2; 5; 10; 20 und 300 g. Die ersten 7 Versuche wurden in kleineren Bechergläsern (etwa 120 ccm Inhalt) mit 0,5 g Fibrin ausgeführt; der letzte in einem großen Bechergläse, gefüllt mit einem Liter Wasser und 3 g Fibrin. In den ersten 5 Gläsern wurde außer der genannten Erdmenge noch pasteurisierte Erde (bis zu 20 g) zugesetzt, weil aus verschiedenen Versuchen hervorgegangen war, daß dann die Kulturen den besten Erfolg hatten. Läßt man diese pasteurisierte Gartenerde (durch Übergießen mit siedendem Wasser erhalten) weg, so bekommt man ein so starkes Bakterienwachstum, daß die Grünalgen sich infolge Mangels an Sauerstoff und Nährstoffen nur schlecht entwickeln können. Ist aber pasteurisierte Erde vermischt mit Fibrinkörnchen in etwa 2—3 cm dicker Schicht am Boden vorhanden, so beschränkt sich der Fäulnisprozeß hauptsächlich auf diesen

Teil der Kultur und ist weniger intensiv. Die Fäulnisprodukte diffundieren langsam aus der Erde heraus und werden von den Algen und Bakterien, welche letztere immer eine schleimige Haut an der Oberfläche bilden, allmählich aufgebraucht. Diese regulierende Wirkung, welche die pasteurisierte Erde auf die Verteilung der ernährenden, in stetem Entstehen begriffenen organischen Verbindungen ausübt, kann man auch mit reinem Sand erzielen.

Das Resultat eines solchen Versuches mit steigenden Mengen der Erde veranschaulicht untenstehende Tabelle.

Quantität der verwendeten Erde	Beobachtete Organismen nach 10 Tagen.
0,1 g	Keine Grünalgen.
0,5 „	„ „
1 „	Schwaches Wachstum von Spond. quat. und Chlam. var.
2 „	Mäßiges Wachstum von Spond. quat. und Chlam. var.
5 „	Gutes Wachstum, vorwiegend Chlam. var., auch Spond. quat.
10 „	Starkes Wachstum, Chlor. euchlorum, Spond. quat., Chlam. var.
20 „	Starkes Wachstum, Chlor. euchl. entwickelt sich besser wie in der vorigen Probe. Spondylomorum, Chlamydomonas bleiben zurück.
300 „	Sehr schöne Kultur, Chlor. euchl., Spondyl. quatern., Chlam. variabilis, noch zwei Chlamydomonaden, welche aber nicht weiter studiert sind und Polytoma uvella.

Hieraus ist ersichtlich, daß mit kleineren Erdproben (0,1 bis 0,5 g) keine sicheren Resultate zu erwarten sind und weiter, daß in der Gartenerde zur fraglichen Jahreszeit (April, Mai) Spondylomorum und Chlamydomonas variabilis recht häufig, Chlorogonium euchlorum und andere Chlamydomonaden weniger häufig, Polytoma uvella ziemlich selten sind. Auch ist zu bemerken, daß Chlor. euchl. sich viel kräftiger entwickelt als die anderen Arten, und daß es diese letzteren überwuchert, besonders wenn die Kulturen überimpft werden. Durch Anstellen einer größeren Anzahl von Versuchen mit kleinen Erdmengen z. B. 0,1 g als Impfmateriale, kann man schon nach dieser Methode (Brefelds Verdünnungsmethode) zu Kulturen von einzelnen Arten gelangen.

Gewisse Arten der Volvocaceen sind also an faulende Substrate angepaßt; ihre speziellen Lebensbedingungen kann man künstlich hervorrufen, indem man zu einem Volvocaceen enthaltenden Material einen Eiweißkörper hinzusetzt und den

Fäulnisprozeß im Lichte vor sich gehen läßt. Die genannten Arten müssen im Boden sehr allgemein verbreitet sein, wie es schon aus den oben beschriebenen Versuchen deutlich wird. Man sieht sie aber nur gelegentlich in der Natur in größeren Mengen auftreten, in Mistpfützen und Tümpeln. Mir scheint aber, daß ihnen in der Gartenerde oft Gelegenheit geboten wird, sich massenhaft zu entwickeln; denn eine gut bebaute Gartenerde ist reich an kleinen Tieren (Insekten usw.), die beim Absterben reichlich organische Nahrung (Eiweiß) liefern. Nur fällt es dem Beobachter im allgemeinen nicht besonders auf, daß eine Erdprobe viele grüne Organismen enthält, was bei verdorbenen Flüssigkeiten sogleich zutage tritt.

Bei den Anhäufungsversuchen kann das Fibrin auch vertreten werden durch irgend ein abgetötetes Tierchen (z. B. Regenwurm), und man gelangt auch so zu schönen Kulturen von Volvocaceen. Ein von mir auf diese Weise angestellter Versuch ergab eine sehr kräftige Kultur, in welcher *Chlor. euchlorum* und *Chlam. variabilis* gefunden wurden.

Auch mit Kuh- und Pferdemist wurden einige Versuche angestellt und es zeigte sich, daß einzelne Arten (*Chlor. euchlorum*, *Chlam. variabilis*, *Spondylomorüm quaternarium* und *Polytoma uvella*) sich ziemlich gut entwickeln. Benutzt wurde zu diesen Kulturen eine Flüssigkeit, die erhalten wurde durch Übergießen von 50 g Mist mit 100 ccm siedenden Wassers. Das Wachstum war aber nicht so intensiv wie in den Eiweißkulturen. Ferner versuchte ich mit diesem Mistdekot die in unserer Gartenerde vorhandenen Algen anzuhäufen. Zu diesem Zweck wurden zu dem pasteurisierten Mistdekot 20 g Erde hinzugefügt, eine Quantität, die genügte, um nach der Fibrinmethode mit Sicherheit ein starkes Wachstum von Volvocaceen zu bekommen. Jedoch es traten keine grünen Algen auf. Dagegen wurde sofort wieder eine schöne Kultur von *Chlorog. euchl.* erhalten, wenn zu dem frischen Pferdemist und der pasteurisierten Gartenerde Fibrin zugesetzt wurde, so daß also die Fibrinmethode als die bessere und sichere zu betrachten ist.

Statt der genannten Eiweißkörper kann man auch trockene Gelatine in kleine Stückchen zerschnitten zu dem Versuche verwenden.

3. Anhäufungsversuche mit anderen organischen Verbindungen.

a) Anhäufung mit Stärke und Zuckerarten. Einfluß von Säure und Alkali.

Wenn die Gartenerde oder der Grabenschlamm mit einem Gramm Stärkemehl vermischt und nachher mit 100ccm Leitungswasser übergossen wurde unter Zusatz von 0,05% NH_4Cl und 0,05% K_2HPO_4 , oder wenn zu der Erde eine 2%ige Glukoselösung mit denselben Nährsalzen hinzugefügt wurde, so trat nach einiger Zeit eine kräftige Gärung ein, wobei hauptsächlich Buttersäure entstand. In diesen Kulturen, welche im Licht aufgestellt waren, wurden keine Grünalgen beobachtet. Wie aus den im nächsten Abschnitte beschriebenen Versuchen mit Kalksalzen von organischen Säuren hervorgeht, mußte diese Tatsache der sauren Reaktion dieser Kulturen zugeschrieben werden; eignet sich doch das Calciumbutyrat sehr gut zur Anhäufung einer Volvocacee.

Es war von Belang, den Einfluß dieser Säurebildung auf die Entwicklung der schon beschriebenen, in den Fibrinkulturen auftretenden Algen zu verfolgen. Die zu diesem Zweck angestellten Versuche, bei welchen außer Fibrin zu der Erde noch Stärke, Glukose oder Mannit hinzugefügt wurde, haben ergeben, daß bei Gegenwart von 1% Stärke und der hieraus sich bildenden geringen Säuremenge (etwa 0,5—1 ccm $\text{N} \cdot \text{KOH}$ pro 100 ccm), die einzelnen Arten sich noch ziemlich gut vermehren konnten. Ganz anders war der Verlauf, wenn 2% Glukose hinzugefügt wurden. In diesem Fall entstand viel Buttersäure (vergl. Beijerinck(12)), welche in den Kulturen einen Säuregrad von $\pm 4,5$ ccm $\text{N} \cdot \text{KOH}$ pro 100 ccm Flüssigkeit erzeugte. In den Rohkulturen entwickelten sich gar keine Volvocaceen; in den mit reichlichen Mengen der betreffenden Arten beimpften Becherglaskulturen fand im Anfang nur sehr schwaches Wachstum statt (Säuregrad: 0,5—1 ccm $\text{N} \cdot \text{KOH}$ pro 100 ccm), und bei steigendem Säuregrad (2—3 ccm $\text{N} \cdot \text{KOH}$)

starben alle ab. Die Glukose an und für sich kann keine hemmende oder schädliche Wirkung auf die Entwicklung der Algen ausgeübt haben, wie sich aus den mit den Reinkulturen angestellten Versuchen ergibt. Es kann also nur die entstehende Säure in diesem Sinne eingewirkt haben. So wurde denn auch für eine Reinkultur von Chlorogonium festgestellt, daß zugegebene Dosen von Milch- oder Citronensäure vom Säuregrad 0,5—1 ccm N · KOH, entwicklungshemmend, größere Quantitäten tödlich wirkten.

Ähnlich wie gegen Säuren verhalten sich diese Organismen Alkalien gegenüber. Bei der anaeroben Zersetzung von Eiweißkörpern entsteht bekanntlich außer den mannigfaltigen N-haltigen organischen Produkten (aliphatische Mono- und Diaminosäuren, aromatische und heterocyclische N-haltige Derivate), auch kohlen-saures Ammon, und auch die ersteren Verbindungen werden durch die weitere Tätigkeit aerober Bakterien bei Luftzutritt in kohlen-saures Ammon übergeführt. Die verwendeten Kulturflüssigkeiten reagieren also alkalisch. Jedoch war bei den hier verwendeten Quantitäten des Eiweißes resp. des Fibrins die entstehende Ammoniakmenge nicht sehr groß; der Titer der Flüssigkeit schwankte zwischen 0,5 ccm und 1,5 ccm N · H₂SO₄ pro 100 ccm. In dieser Menge wirkt also das Alkali nicht schädigend. Durch Zusetzen von steigenden Mengen von Ureum zu den Fibrin-Erde-Kulturen wurde ein bestimmter Ammoniakgehalt erzielt (siehe untenstehende Tabelle). Das Ureum war nach kurzer Zeit von den allgemein in der Erde vorhandenen Ureumspaltern (Urobacillus Pasteurii⁽¹³⁾ u. a.) völlig zerlegt.

Zugefügtes Ureum	Alkalität ccm N. S. pro 100 ccm nach 5 Tagen	Beobachtetes Wachstum nach 5 Tagen			
		Chlorog. euchlorum	Chlamyd. variabilis	Spondylom. quatern.	Polytoma uvella
0 g	1—1,5	gut	gut	gut	gut
0,1 g	2	mäßig	sehr gut	„	„
0,2 g	4,5	schlecht	mäßig	„	mäßig
0,3 g	6,6	kein	kein	kein	kein
0,5 g	12	„	„	„	„
1 g	24	„	„	„	„

Wie aus der Tabelle hervorgeht, wird von den untersuchten Volvocaceen Alkali viel besser ertragen als Säure; die Grenze für das Wachstum liegt für alle bei ungefähr 5 ccm N. pro 100 ccm.

b) Anhäufung in Lösungen organischer Kalksalze (Ca-acetat, -butyrat usw., Zellulose usw.).

In einer Lösung von folgender Zusammensetzung: 100 g Leitungswasser, 2 g Calciumacetat, 0,05 g K_2HPO_4 , 0,05 g NH_4Cl , welche ein Erlenmeyer-Kölbchen bis an den Hals füllte, und reichlich mit Schlamm aus einer Kloake beimpft worden war, hatte sich im Lichte bei $20^0 C$ nach einigen Wochen eine schöne Kultur einer grünen Alge entwickelt. In dem Kolben fand eine lebhafte Gärung statt, wobei sich Methan und Kohlensäure entwickelte [vergl. Mazé(14) und Ome-lianski(15)]. Außer den Organismen der Methangärung [vergl. Söhngen(16)] traten im Anfang eine Masse kleiner, grünlich gefärbter, wahrscheinlich zu den Schwefelbakterien gehörender Organismen auf, daneben auch rote Schwefelmonaden (Monas Okenii). Zu dieser Zeit enthielt die Flüssigkeit denn auch ziemlich viel Schwefelwasserstoff, durch Reduktion der Sulfate(17) aus dem Leitungswasser entstanden. Später aber machte diese Flora einer grünen Alge Platz und zwar einer Carteria. Die in dieser Acetat-Flüssigkeit auftretende Art war bis jetzt noch nicht angetroffen worden, und unterschied sich auch durch mehrere Merkmale von den andern in den Fibrinkulturen gefundenen Chlamydomonaden. Besonders auffallend war die starke Aufspeicherung von Stärkekörnern im Innern; mit Jod färbten sie sich intensiv violett-blau. Dies wurde besonders deutlich sichtbar, wenn die Zellen zerquetscht und die ausgetretenen Körner mit verdünnter Jodlösung behandelt wurden. Am wichtigsten aber war die Eigenschaft dieser Art, sich in Lösungen von organischen Kalksalzen im Lichte gut zu entwickeln. Von den anderen untersuchten Arten zeigte nur Chlamydomonas intermedia beträchtliches Wachstum in einer Flüssigkeit, die erhalten wurde durch Übergießen von Gartenerde mit siedender Acetatlösung von obiger Zusammensetzung. Alle andern Arten gediehen in dieser Lösung nur

sehr langsam und zeigten unter dem Mikroskop ein ganz abnormes Aussehen. So erzeugte Chlorogonium in diesen Kulturen bei reichlicher Impfung statt der schön ausgebildeten spindelförmigen Zellen mit scharf zugespitzten Enden, nur kurze dicke Individuen unregelmäßiger Gestalt, zuweilen mit einem spitzen Ende, zuweilen rundlich wie eine Chlamydomonade, oder mit verschiedenen Ausbuchtungen und stark abstehender Hülle. Spondylomorom quaternarium und Polytoma uvella wuchsen gar nicht in der Acetatlösung und gingen bald zugrunde. Chlamydomonas variabilis entwickelte sich nach Verlauf eines Monats ziemlich stark, sah aber sehr verändert aus. Auffallend aber war, daß diese Arten in der Acetatlösung Neigung zeigten, viel Stärke aufzuspeichern, so daß sie sich mit Jod mehr oder weniger violett färbten. Besonders die von Chlorogonium gebildeten Körner zeigten deutliche Stärkereaktion.

Aus Kloaken- und Grabenschlamm konnten nach der Fibrinmethode nie grüne Algen gezüchtet werden, immer trat Polytoma uvella auf. Führt man umgekehrt den Acetatversuch mit Gartenerde aus, so bleiben die schon erwähnten Arten alle zurück mit Ausnahme einer Chlamydomonade, welche viel Übereinstimmung zeigte mit der aus dem Schlamm gezüchteten, aber nicht weiter von mir untersucht worden ist. Ein Zusatz von 2% Calciumacetat zu der Fibrin-Gartenerde-Kultur genügte, um das Auftreten von Chlorogonium, Spondylomorom und der gewöhnlichen Chlamydomonaden völlig zu verhindern.

Im Gegensatz zu den anderen oben beschriebenen Volvocaceen, schien die neu aufgefundene Art ein Bewohner flüssiger Medien zu sein und besonders im Bodenschlamm sich aufzuhalten. Daß hiermit ihr Vermögen, organische Salze zu ihrer Ernährung verwenden zu können im Zusammenhang steht, ist wohl leicht einzusehen, weil bei dem überall stattfindenden Prozeß der Zellulosegärung⁽¹⁸⁾ Essigsäure und Buttersäure entstehen. Diese Annahme bestätigte ein Versuch in einem Bechergläschen, in dem der Grabenschlamm mit Filtrierpapierstreifen und Kreide vermischt und außerdem noch 0,05 % NH_4Cl und 0,05 % K_2HPO_4 zugesetzt wurde. Nach einer Woche war schon eine schwache Gasentwicklung zu bemerken,

und nach 10 Tagen hatte sich an der Wand des Glases ein grünlicher Belag gebildet. In diesem Versuch waren die Wachstumsbedingungen denjenigen, wie sie in der Natur vorhanden sind, möglichst genähert. Auch fehlte hier der ziemlich hohe Gehalt (2%) des organischen Kalksalzes. Bei der mikroskopischen Untersuchung der Kultur zeigte sich ein sehr schönes Bild von einem Algengemisch, welches hauptsächlich aus Diatomeen, Oscillatorien, Euglenen, Monas Okenii, Infusorien usw. bestand und in nicht geringer Menge auch die gesuchte Carteria enthielt. Ein ähnliches Resultat wurde erzielt mit einem aus Rüben durch Zerreiben, Auslaugen der löslichen Substanzen und Entfernen der Stärke mittelst Diastase-Einwirkung hergestellten Präparat, welches neben Zellulose viel Pektin enthielt. Bei diesem Versuche war die Gärung und die Säurebildung (Pektingärung) viel energischer als bei dem vorigen Versuch, die eben erwähnten Diatomeen, Oscillatorien usw. blieben aus, Carteria aber entwickelte sich bedeutend.

Für die Anhäufung dieser Art kann man außer essigsauerm Calcium auch die Kalksalze folgender organischen Säuren verwenden, welche alle mehr oder weniger gute Resultate geben: Propionsäure, Buttersäure, Milchsäure und Apfelsäure. Calciumpropionat gibt sogar sehr schöne Kulturen. Ameisensaures und valeriansaures Calcium eignen sich nicht zu dem Versuch.

Es muß hervorgehoben werden, daß neben der eiförmigen, 4 Zilien tragenden Carteria, welche ich *Carteria ovata* sp. nov. nennen werde, in diesen Kulturen eine Chlamydomonade sich vorfand, welche aber in jeder Hinsicht mit der ersteren Art übereinstimmt, allein eine mehr elliptische Gestalt hat und nur 2 Zilien trägt. Da noch nicht sichergestellt ist, ob hier wirklich eine bestimmte Art vorliegt, oder ob man es mit einer einzigen Spezies zu tun hat, die sich in zweierlei Gestalt, als Carteria und als Chlamydomonas zeigen kann, erwähne ich das Vorkommen der letzteren nur beiläufig und hoffe, später darüber Auskunft geben zu können.

Die Zeit, innerhalb welcher die grünen Organismen sichtbar werden, ist etwas länger als bei den Fibrinkulturen; man bemerkt nach etwa 10 Tagen dicht unten am Boden einen grünen Anflug an der Glaswand und zwar an der Seite, welche dem

Lichte abgewendet ist. Die Algen haften fest an der Glaswand, bedecken dieselbe nach einiger Zeit gänzlich und bilden einen festen Belag, welchen man mit einem Glasstabe als ein sandiges grünes Pulver, welches viel CaCO_3 enthält, abkratzen kann. Diese Eigenschaft, sich an dem Glase festzusetzen, kommt auch den übrigen Arten zu, aber in viel geringerem Maße. Mit den andern Arten stimmt *Carteria* darin überein, daß sie sich auch in dem pasteurisierten Fibrinerde-Gemisch sehr gut kultivieren läßt. Man bekommt auf diese Weise sehr üppige Kulturen; nur ist es noch nicht ganz klar, warum diese *Carteria* bei den früheren Fibrin-Versuchen mit Schlamm nie beobachtet wurde und immer nur *Polytoma uvella* auftrat. Möglicherweise überwuchert diese sehr stark sich entwickelnde Art die grüne Alge, der Sauerstoff wird schnell verbraucht und ein anaerober Zustand hergestellt, der für *Polytoma* nicht schädlich ist, weil diese Art stark mikroaerophil ist. Bemerkenswert war, daß die Stärkebildung von *Carteria* in den faulenden Fibrinflüssigkeiten weniger stark war, als in den Acetatkulturen; mehrere kleinere Individuen färbten sich mit Jod nur bräunlich, die älteren aber enthielten verhältnismäßig viel Stärkekörner. *Carteria* unterscheidet sich von den anderen grünen Volvocaceen durch ihr Vermögen, auch in den Eiweißkulturen viel Amylum bilden zu können, stimmt hierin aber mit *Polytoma uvella* überein. Die anderen Arten bilden in den Fibrinkulturen nur wenig Stärke und werden durch Jod bräunlich gefärbt. Entfernt man aber das Chlorophyll durch Lösen in Alkohol und kocht man nachher die Zellen mit Wasser auf zur Verkleisterung der Stärke, so geben sie nach Zusatz von verdünnter Jodlösung alle eine deutliche Stärke-reaktion.

4. Der Sauerstoff in den Kulturen.

Die meisten der untersuchten Volvocaceen kann man zu den mikroaerophilen Organismen rechnen, nur *Clamydomonas Ehrenbergii* nähert sich mehr dem aeroben Typus. Schon ihre Lebensbedingungen, die aus den beschriebenen Kulturversuchen deutlich zutage treten, zeigen, daß sie nur ein geringes Sauerstoffbedürfnis haben; denn mit Vorliebe entwickeln sie sich ganz in der Nähe der Erde, welche sich am Boden der Kulturgefäße

befand. Begreiflich ist es, daß sie sich der Quelle, aus welcher ein Strom von ernährenden Verbindungen heraustritt, so dicht wie möglich nähern; der Druck des Sauerstoffes aber kann an dieser Stelle nur sehr gering sein, weil immer ein starkes Bakterienwachstum in der Kultur stattfindet. Schon die schleimige, sich an der Oberfläche immer bildende Bakterienhaut, verbraucht den größten Teil des hineindiffundierenden Sauerstoffes. Dessenungeachtet entwickeln die Algen sich unten am üppigsten, indem sie eine 2—3 cm dicke, tiefgrüne Schicht bilden. In der Tat konnte mit dem Leuchtbakterienversuch (19) nachgewiesen werden, daß die Quantität des gelösten Sauerstoffs in den Kulturflüssigkeiten unter Umständen sehr gering sein kann. Ließ man in einem dunkeln Raum, in einer guten Kultur von Leuchtbakterien, welche eine Flasche ganz ausfüllte und durch Sauerstoffmangel ganz und gar dunkel geworden war, aus einer sich in der Kultur befindlichen Pipette etwas Flüssigkeit, welche unten aus den Algenkulturen entnommen war, hineinfließen, so wurde meistens nur ein sehr schwaches Aufleuchten der Kultur beobachtet, ja schwächer als dies mit gesättigtem Schwefelwasserstoffwasser erhalten wurde.

In den Fibrinkulturen, sowie auch in den Kulturen mit organischen Salzen, kann fast immer Schwefelwasserstoff nachgewiesen werden, und zuweilen färben die Lösungen sich tief-schwarz von gebildetem Schwefeleisen. Das Auftreten dieser Verbindung hat einen sehr ungünstigen Einfluß auf den Verlauf der Kultur, weil das FeS sich zum größten Teil an der Wand absetzt und das Eindringen der Lichtstrahlen verhindert. Nur an der Oberfläche, wo noch Licht durchdringt, findet ein ansehnliches Wachstum der Algen statt. Man bekommt auf diese Weise ungefähr dasselbe Resultat, als wenn man die Gläser an einem dunklen Ort oder ganz vom Lichte abgeschlossen aufstellt. Wie schon gesagt, sind es nur *Polytoma uvella* und *Chlorogonium euchlorum*, welche unter diesen Umständen sich vermehren können; *Spondylomorom* (nach 2—3 Tagen) und die anderen sieht man im Dunkeln nach wenigen Tagen ganz zugrunde gehen.

Wiewohl diese Algen in verhältnismäßig sauerstoffarmen Medien leben können und bei völligem Mangel an Sauerstoff nicht zugrunde gehen, wenn dieser Zustand nicht zu lange

dauert, bedürfen sie doch des freien Sauerstoffes zu einer massenhaften Entwicklung. Diesen Sauerstoff, der in den Kulturen von außen her nach unten nur schwer eindringen kann, liefern sie sich selbst, indem sie die vorhandene Kohlensäure im Lichte assimilieren. Diese Assimilationstätigkeit hat sich als eine sehr starke erwiesen, denn im hellen Tageslichte sieht man nach wenigen Minuten in Präparaten dieser Algen unter dem Deckglase massenhaft Sauerstoffbläschen entstehen. Der Sauerstoff, der so unten in den Kulturen in großer Menge gebildet werden muß, wird von aëroben Bakterien sogleich wieder aufgebraucht.

Auf Grund dieser Erwägungen ist es einleuchtend, von welchem großem Interesse das Vorkommen dieser Algen in der Natur ist, und welchen bedeutenden Anteil sie nehmen können in der Selbstreinigung der Schmutzwässer. Eben durch ihre intensive Sauerstoffbildung besorgen sie die Durchlüftung faulender Flüssigkeiten und vermöge ihrer Mikroaërophilie gerade an den Stellen, wo der Sauerstoff der Luft nicht hingelangt, sodaß die Mineralisierung der organischen Verbindungen nicht wenig beschleunigt wird.

Zuweilen kann man mit dem Algenmaterial schöne Atmungslinien bekommen, wenn man es in einer feuchten Glaskammer nach der Methode von Beijerinck(20) untersucht.

Bei diesem Versuche bildet *Polytoma uvella* immer eine Linie vom echten Spirillentypus in einiger Entfernung vom Meniscus; diese Lage bleibt längere Zeit beibehalten. Auch konnte diese Spirillenlinie zuweilen bei *Chlorogonium euchlorum* und *Chlamydomonas variabilis* wahrgenommen werden; diese Grünalgen aber zeigten eine wechselnde Stimmung dem Sauerstoffe gegenüber und suchten nach einiger Zeit den Meniscus auf. Vermutlich erweisen sich die Algen aus sehr sauerstoffarmen Medien im Anfang mikroaërophil und verlieren nach einiger Zeit ihre Empfindlichkeit der höheren Sauerstoffkonzentration gegenüber.

5. Bemerkungen über die Lichtempfindlichkeit der Volvocaceen.

Schon im Jahre 1867 wurde von Famintzin(9) der richtende Einfluß des Lichtes auf die beweglichen Individuen von Chla-

mydomonas und Euglena festgestellt. Er fand, daß erstere Alge sich im direkten Sonnenlichte von der Lichtquelle abkehrte (negativ phototaktisch), im Schatten aber sich dieser zuwendete, während Schmidt(21) an Chlam. pulvisculus nur positive Phototaxis beobachten konnte. Die von Frank(6) untersuchte Chlam. tingens verhielt sich ebenso wie die von Famintzin studierte Art. Die Eigenschaft, sich sowohl negativ als positiv phototaktisch erweisen zu können, zeigen auch die meisten der in den vorigen Abschnitten erwähnten Volvocaceen, und sie stimmen im großen und ganzen hinsichtlich ihrer Lichtempfindlichkeit mit den von Strasburger(7) untersuchten Schwärmern verschiedener Algen (Botrydium granulatum, Haematococcus lacustris, Ulothrix zonata usw.) überein.

Im allgemeinen reagieren diese schwärmenden Grünalgen in der Weise auf die Reizwirkung des Lichtes, daß sie eine, für jede Art bestimmte Lichtintensität aufsuchen, oder wenigstens, wenn diese wegen der Lage der Gefäße, in welchen sie sich befinden, nicht erreicht werden kann, sie je nach ihrer Stimmung an der hellsten oder dunkelsten Stelle, resp. dem positiven oder negativen Rand (bezw. Meniscus) sich ansammeln. Eine positiv phototaktisch reagierende Alge kann in den meisten Fällen durch Steigerung der Lichtintensität gezwungen werden, den negativen Rand aufzusuchen, und umgekehrt kann eine Art, welche am negativen Rande sich befindet, durch Verminderung der Intensität positiv phototaktisch werden [vergl. Oltmanns(22)].

Jedoch gelingt dieser Versuch nicht für alle Arten. So wie Strasburger(7) fand, daß die Schwärmer von Botrydium granulatum und Chilomonas curvata sich bei allen Intensitäten des Lichtes immer am positiven Rande ansammelten, konnte ich für Chlam. Ehrenbergii auch nur positive Phototaxis feststellen. Weil Stahl(23) aber die Schwärmer von Botrydium leicht zwingen konnte, negativ zu reagieren, scheint es mir wahrscheinlich, daß auch Chlam. Ehrenbergii unter Umständen sich negativ phototaktisch erweisen kann. Es wird denn auch beim Studium dieser Lichtwirkung bald deutlich, daß eine immer wechselnde Lichtstimmung bei diesem Versuche sich geltend macht, und man kann sagen, daß Chlam. Ehrenbergii auf sehr hohe Lichtintensität gestimmt war.

Die Lichtstimmung wird durch verschiedene Faktoren beeinflusst. Zu diesen Faktoren(24), welche aber bis jetzt nicht alle eingehend untersucht worden und wahrscheinlich auch nicht bekannt sind, werden der Sauerstoff, die Temperatur und die Lichtintensität, in welcher die Algen sich entwickelt haben, gerechnet. Daß der Druck des Sauerstoffes für diese Stimmung in der Tat von Wichtigkeit ist, konnte ich leicht nachweisen an *Spond. quaternarium* und *Chlam. variabilis*. Der hierüber angestellte Versuch wurde ausgeführt in einigen Kapillarröhrchen, in welche man mit Luft gesättigtes Wasser einsaugen ließ, zu welchem eine, für jedes Röhrchen genau bestimmte Menge Schwefelwasserstoffwasser zugesetzt worden war, und zwar derart, daß der H_2S -Gehalt der Flüssigkeit in den aufeinanderfolgenden Röhrchen immer größer wurde. Es konnte nachgewiesen werden, daß in diesen H_2S -Lösungen, welche in ganz gefüllten und geschlossenen Stöpselflaschen einige Stunden aufbewahrt waren, der Gehalt des Sauerstoffes geringer wurde, je nachdem die H_2S -Zugabe größer war. Die Algen, welche man nach dem Einfüllen der H_2S -haltigen Flüssigkeit aus einem Schälchen aufsaugen ließ, ohne daß Luft hineindrang, wurden also bei ihren taktischen Bewegungen diesen verschiedenen Sauerstoffspannungen ausgesetzt. Wie sich herausstellte, konnten beide Arten einen ziemlich hohen Gehalt an Schwefelwasserstoff ertragen, und Kontrollröhrchen im Dunkeln zeigten keinerlei störende Wirkungen des Gases. Der Umstand, daß *Chlam. var.* und *Spondylomorum* bei einem gewissen Gehalt an H_2S (die Flüssigkeit titrierte 19 ccm 0,01 N. Jod pro 100 ccm und enthielt also ± 32 mg H_2S pro Liter), welcher ihre Bewegung nicht hemmte, sich positiv erwiesen, während sie in dem an Sauerstoff reichen Wasser negativ reagierten, muß meines Erachtens dem Sauerstoffmangel zugeschrieben werden. Daß durch Sauerstoffmangel die phototaktische Lichtstimmung erhöht wird, hat schon Strasburger(25) hervorgehoben und wird jetzt durch den beschriebenen Versuch bestätigt.

Bei hohem Sauerstoffgehalt, z. B. in solchen Präparaten von *Spondylomorum*, in welchen durch die Assimilation viel Sauerstoffbläschen sich gebildet haben, beobachtet man eine starke Schwächung der Lichtempfindlichkeit. Diese Tatsache wurde

bestätigt durch einen Versuch mit dieser Alge im hängenden Tropfen in einer feuchten Kammer, in welche Sauerstoff eingeleitet wurde. In dieser Sauerstoffatmosphäre hatte Spond. nach einiger Zeit seine Lichtempfindlichkeit völlig eingebüßt. Wurde aber nachher Luft oder Wasserstoff eingeführt, so kehrte die phototaktische Reizbarkeit allmählich wieder zurück.

Ein anderer Umstand, welcher auf die Empfindlichkeit von Spondylomorum schädlich wirkt, ist eine hohe Lichtintensität. Setzt man z. B. diese Alge, nachdem sie einige Zeit im Dunkeln verweilt hat, einer schwachen Lichtintensität aus, so sieht man sie positiv phototaktisch reagieren. Steigert man die Intensität allmählich, so erreicht man leicht die Umkehrung der Bewegung; sie wird negativ. Man erreicht dies zweckmäßig in einem dunkeln Zimmer mit undurchsichtigem Vorhang am Fenster, indem man diesen, je nach Belieben, mehr oder weniger aufzieht. Läßt man auf diese Weise die Helligkeit wieder abnehmen, so tritt wieder die positive Reaktion auf. Setzt man aber das Spondylomorummaterial längere Zeit einer sehr hohen Lichtintensität aus, wobei es selbstverständlich negativ phototaktisch reagiert, so tritt, nachdem man das Licht wieder genügend gedämpft hat bis auf die Intensität, bei welcher die positive Reaktion auftrat, diese nicht ein, und das Material bleibt längere Zeit sogar in sehr geringer Helligkeit negativ phototaktisch. Erst nachdem die Algen wieder einige Stunden im Dunkeln verweilt haben, kehrt die normale Empfindlichkeit zurück; die Algen sind jetzt ausgeruht. Man hat es hier zu tun mit der von Strasburger beschriebenen Nachwirkung, welche bei den von mir untersuchten Volvocaceen sich stark geltend macht, wodurch die Resultate oft sehr unsicher werden. Der von Strasburger beobachtete Einfluß der Intensität des Lichts, in welcher seine Schwärmer erwachsen waren, auf die Lichtstimmung derselben, konnte von mir an diesen Volvocaceen nicht sicher festgestellt werden.

Wohl aber fand ich, daß bei erhöhter Temperatur Spondylomorum plötzlich seine Stimmung änderte, statt negativ, positiv phototaktisch wurde. Es wurde dieser Versuch in Kapillarröhrchen ausgeführt, welche ich auf eine, durch ein schwach angeheiztes Wasserbad erwärmte, kupferne Platte legte, und

sie samt einem Thermometer mit einem großen Uhrglase zudeckte. Mit der Lupe konnte man die Kolonien von *Spondylomorum* als kleine bewegliche Pünktchen verfolgen und man sah, wie bei steigender Temperatur die Geschwindigkeit der Bewegung zunahm. Die Röhren wurden, nachdem die Algen sich am negativen Meniscus angesammelt hatten, umgekehrt und die Organismen so gezwungen, wieder den Weg durch die Röhre zu durchlaufen. Bei einem der Versuche fand bei 38° C plötzlich eine Umkehrung statt und die Algen schwammen dem positiven Meniscus zu. Wurden einige der Röhren jetzt bei Zimmertemperatur hingelegt, so stellte sich heraus, daß die ursprüngliche Stimmung (negativ) wieder zurückgekehrt war und die Algen nicht geschädigt waren. Bei weiterem Steigern der Temperatur ($41-42^{\circ}$ C) wurden sie plötzlich unbeweglich und starben ab. Die Temperatur, bei der die Umkehrung stattfand, ebenso die Abtötungstemperatur, war aber nicht immer dieselbe; erstere schwankte zwischen 38 und 42° C, letztere zwischen 42 und 45° C. *Spondylomorum* zeigte also auch in dieser Beziehung eine wechselnde Stimmung.

Mit den übrigen Algen sind diese Versuche nicht ausgeführt worden, weil diese sich viel weniger gut als *Spond.* dazu eigneten.

Außer *Chlam. Ehrenbergii*, welche nur positiv reagierte, und *Polytoma uvella*, welche nicht empfindlich ist, reagieren die beschriebenen *Volvocaceen* bei stärkerer Beleuchtung negativ, bei schwächerer Intensität positiv.

Bei diesen phototaktischen Erscheinungen drängt sich die schon von mehreren Autoren erörterte Frage auf, welcher Umstand für die Bewegung maßgebend ist: die Intensität oder die Richtung der Lichtstrahlen.

Daß die Richtung des Lichts an und für sich als Reiz auftreten würde, ist nicht anzunehmen und man muß die Intensität oder den Lichtabfall als das Prinzip betrachten, welches von den Algen als Reiz perzipiert wird, wobei aber die Richtung des Lichtes sekundär als richtender Faktor wirksam ist.

Die Richtung der Bewegung, welche in mehr oder weniger gekrümmten Bahnen von den Algen befolgt wird, stimmt mit

der der Lichtstrahlen überein, und ein Zusammenhang zwischen den beiden ist nicht zu verkennen. Durch die Richtung der Strahlen wird aber der Lichtabfall in dem Medium bedingt, ist dieser doch eben in dieser Richtung am größten. Die Richtung der Bewegung könnte man also auch auf das Maß des Lichtabfalls zurückführen. Ist dieser Intensitätsunterschied nun als das richtende Prinzip zu betrachten, so muß dies auch an der Stelle wirksam sein, wo die Algen ihre Bewegung einstellen (d. h. nicht weiter sich der Lichtquelle nähern oder sich von derselben entfernen). Warum sie doch in dieser Gleichgewichtslage verbleiben, kann man sich leicht erklären, indem man annimmt, daß sie den Reiz zwar empfinden, ihre Stimmung aber fortwährend wechseln, und in einer bestimmten Zone abwechselnd die negative und positive Seite aufsuchen.

Die Versuche, welche ich mit diesen Algen in farbigem Lichte angestellt habe hinsichtlich ihrer Assimilationsfähigkeit und der Lichtempfindlichkeit, haben bis jetzt keine sicheren Resultate ergeben und bedürfen noch der Ergänzung, weshalb sie hier nicht besprochen werden.

6. Trennung und Reinkulturen.

a) Trennung durch die Wirkung des Lichts und des Austrocknens.

Bei den in Kapitel 2 und 3 besprochenen Anhäufungsversuchen und besonders bei den Fibrinversuchen gelangt man je nach der Beschaffenheit und dem Algenreichtum des vorhandenen Impfmateri als zu verschiedenartigen Gemischen von grünen Algen. Es lag nahe, zu untersuchen, inwieweit diese verschiedenen Algen von einander getrennt werden können, und ob nach den gewöhnlichen bakteriologischen Arbeitsmethoden bakterienfreie Reinkulturen zu bekommen seien. Besonders wichtig war es, für einige Arten die Ernährungsbedingungen genau festzustellen, zu welchem Zwecke absolute Reinkulturen natürlich unbedingt nötig sind.

Von großer Wichtigkeit für das Studium von Algen, besonders für die Betrachtung ihrer morphologischen Kennzeichen unter verschiedenen Kulturbedingungen und für ihre Identi-

fizierung ist bekanntlich eine gute Methode für ihre Reinkultur. Wünscht man aber, ohne Rücksicht zu nehmen auf die Bakterien, die Arten von einander zu trennen, so kann man es in dieser Richtung schon ziemlich weit bringen, wenn man den Lichtversuch in Kapillarröhrchen ausführt. Als Beispiel führe ich einen derartigen Versuch mit einem Algen-gemisch an, so wie es in einem der Versuche sich entwickelt hatte und unter dem Mikroskop *Chlor. euchlorum*, *Chlam. variabilis*, *Chlam. Ehrenbergii*, *Chlam. intermedia* und *Spond. quaternarium* zu sehen gab.

Es wurde von diesem grünen Gemisch etwas in eine kleine Glasschale gebracht und schon nach einigem Stehen war eine Trennung desselben in einen positiv und einen negativ phototaktischen Teil zu bemerken. Bei der Kontrolle unter dem Mikroskop zeigte sich, daß die Mehrzahl der *Spondylomorum*-Individuen nach dem negativen Rande sich bewegt hatten zusammen mit *Chlam. variabilis*, während die zwei anderen *Chlamydomonaden* vorwiegend sich am positiven Rande befanden, und *Chlorog. Neigung* zeigte, sich vom Lichte abzuwenden, aber schon in großer Anzahl sich mit den Vorderenden an der unteren Glaswand festgesetzt hatte. Jetzt wurde eine Anzahl Kapillarröhrchen (die Dimensionen dieser Röhrchen waren ungefähr dieselben wie die, der von Ogata angewendeten) über etwa 10 cm Länge gefüllt mit sterilisiertem Wasser, dann ließ man sie, ohne daß eine Luftblase hineindrang, noch über 2 cm der grünen Flüssigkeit aufsaugen. Darauf ließ man die Wassersäule durch Neigen der Röhre sich nach der Mitte hin bewegen, wodurch an beiden Seiten ein Luftraum von etwa 5 cm übrig blieb; darauf wurde das eine Ende in der Flamme zugeschmolzen. Nun wurden die Röhrchen nebeneinander auf den Arbeitstisch hingelegt und zwar senkrecht auf die Fensterscheiben gerichtet; die eine Hälfte der Röhrchen wurde mit dem eingefüllten Algen-gemische dem Lichte zugekehrt, die andere aber dem Lichte abgewendet. Jetzt wurden sie einige Zeit der Wirkung des Lichtes überlassen und dann — und zwar unter dem Mikroskop — kontrolliert. Es wurde bald deutlich, daß *Spondylomorum* von allen anderen die kürzeste Zeit brauchte, um in den Röhrchen den an der negativen Seite befindlichen

Meniscus zu erreichen; besonders einige Individuen waren sehr beweglich und legten die Strecke von 10 cm in weniger als 10 Minuten zurück. Die anderen, von *Chlam. variabilis* begleitet, folgten später. Schneidet man aber, bevor diese angekommen sind, die Röhre eben unter dem Meniscus, wo sich die ersten Individuen von *Spond.* angehäuft haben, durch und bringt man das in dem abgeschnittenen Teil befindliche kleine Tröpfchen in das pasteurisierte Fibrinerde-Gemisch, so kommt man leicht zu Kulturen, worin sich nur diese Art vorfindet. Setzt man diese Kultur an mit den nachher kommenden *Spondylomorum*-Individuen zusammen mit *Chlam. variabilis*, so erhält man selbstverständlich ein Gemisch beider. Man kann aber letztere Art von *Spondylomorum* reinigen, indem man Gebrauch macht von ihrem verschiedenen Verhalten beim Austrocknen. Bringt man das Gemisch der Algen, welches man mittelst einer Pipette vom Boden der Kultur abhebt, auf eine in einer Glasschale befindliche Filtrierpapierscheibe, und stellt man die Schale offen in einen Brutschrank bei 28° C, so ist nach 24 Stunden *Spondylomorum* abgestorben, und es entwickelt sich ausschließlich *Chlam. variabilis*, wenn man jetzt das getrocknete Papier in das Fibrinerde-Gemisch einbringt. Unterwirft man die anderen Algen dem Prozeß des Austrocknens, so findet man, daß auch *Chlor. euchlorum* und *Polytoma uvella* diesem Einfluß gegenüber sehr empfindlich sind, während die *Chlamydomonaden* es alle sehr oder ziemlich gut ertragen. Trocknet man aber ältere Kulturen von *Chlor. euchlorum*, worin sich durch Kopulation der Gameten Zygoten gebildet haben, so behalten diese ihre Entwicklungsfähigkeit, und man bekommt mit diesem getrockneten Material gute Kulturen. Diese Widerstandsfähigkeit gegenüber der Trockenheit wird auch wohl für die Zygoten von *Spondylomorum* gelten, konnte aber für diese Art nicht nachgewiesen werden, weil diese mir nicht zur Verfügung standen und in den reinen Kulturen bis jetzt nicht beobachtet wurden. Vermutlich kommt *Spondylomorum* eben in diesem Zustande in unserer Gartenerde vor, sonst würde sie sich nicht halten können.

Kehren wir zu den in den Kapillarröhrchen sich bewegenden Algen zurück, so sehen wir, daß die Individuen von *Chlorogonium* in derselben Zeit, die die beiden erstbesprochenen Arten brauchten,

um sich an einem Ende anzusammeln, sich nur eine kleine Strecke im negativen Sinne fortbewegt und sich zum größten Teil an der unteren Glaswand festgesetzt hatten. Weil es immer einzelne Individuen bei dieser Lichtprobe gibt, die sich sehr untätig zeigen und zurückbleiben, so ist es begreiflich, daß an der Stelle, wo Chlorogonium sich befand, noch einige träg bewegliche Zellen von Spondylomorum und Chlam. variabilis u. a. vorhanden waren. Auf diese Weise gelangte man also nicht zu einer Reinkultur von Chlorogonium. Um dies zu erreichen, muß man einen anderen Weg einschlagen. Weil diese Art sich in der Fibrinkultur so stark entwickelt, kann man durch Überimpfen ein Material bekommen, das sich praktisch schon für die meisten Zwecke eignet. Will man aber eine ganz zuverlässige Reinkultur haben, so ist man genötigt, zu der Kultur auf Agarplatten seine Zuflucht zu nehmen.

In den Kapillarröhrchen, welche mit dem, mit reinem Wasser gefüllten Teil dem Fenster zugekehrt waren, hatte sich am positiven Meniscus ein Gemisch zweier Chlamydomonaden angesammelt, welche später als Chlamydomonas Ehrenbergii und Chlam. intermedia bestimmt wurden. Durch Abbrechen der Röhre wurden beide Arten zusammen getrennt von den anderen erhalten und in der Fibrinflüssigkeit kultiviert. Die Trennung dieser Arten von einander auf diese Weise durchzuführen, war nicht möglich. Durch Austrocknen kann man die eine Art Chlam. intermedia abtöten und so Chlam. Ehrenbergii allein bekommen. Da aber beide Algen gute Kolonien auf Agarplatten geben, konnte auf diese Weise die Trennung zustande gebracht werden.

Selbstverständlich gibt die Kapillarrohrmethode für die Trennung dieser Algen nicht immer sichere Resultate. Die Trennung derjenigen Arten, welche dieselbe phototaktische Stimmung zeigen, gleichgut das Austrocknen ertragen und keine Kolonien bilden, wie Chlam. variabilis und Carteria ovata, wird wohl nur auszuführen sein, indem man nach der Methode von Klebs(5) die einzelnen Individuen herausfischt. Carteria ovata kann aber auf Grund ihrer Fähigkeit, von organischen Salzen sehr gut leben zu können, von den übrigen Grünalgen geschieden werden.

Handelt es sich darum, *Polytoma uvella* von den grünen Volvocaceen, mit denen sie zusammen vorkommt, zu trennen, so braucht man nur die Kultur ein paar Mal zu überimpfen und im Dunkeln zu kultivieren, *Polytoma* wächst dann sehr stark, während von den anderen nur *Chlorogonium* sich etwas entwickelt, beim Überimpfen aber bald verschwindet.

b. Die Reinkultur.

Wenn man nach der oben beschriebenen Methode die verschiedenen Arten getrennt und von jeder in der faulen Fibrinflüssigkeit eine gute Kultur bekommen hat, so kann man mit der Reinigung derselben von den Bakterien beginnen, indem man jetzt die Schwimmprobe in den Kapillarröhrchen im Lichte wieder zu Hülfe nimmt. Man läßt also die Grünalgen, indem sie ihre phototaktische Bewegung ausführen, durch sterilisiertes Wasser oder Kulturflüssigkeit schwimmen. Der Weg, welcher von der Alge zurückgelegt wird, ist im Vergleich zu dem, welcher von den Bakterien in gleicher Zeit durchlaufen wird, viel größer; erstens, weil sie beweglicher sind, und zweitens, weil sie einem bestimmten Ziele zusteuern. Da für die Bakterien der Lichtreiz nicht besteht, würden sie an Ort und Stelle verbleiben, wenn nicht durch die schnelle Bewegung der Zilien der Algen in der Flüssigkeit Strömungen entstünden, welche die Bakterien ziemlich weit mitreißen. Wohl bleiben sie nach und nach zurück, aber es gelingt doch nur selten, durch Abschneiden der Röhre in dem Augenblick wo die ersten grünen Zellen den Meniscus erreicht haben, Reinkulturen zu bekommen. Besonders die großen Kolonien von *Spondylomorom*, welche mit einer so großen Menge von Zilien ausgerüstet sind (z. B. $16 \cdot 4 = 64$ Stück), schleppen immer Bakterien mit. Darum erscheint es mir besser, dieses Verfahren wenigstens für die kolonienbildenden Arten nur zur Reinigung zu verwenden; immerhin aber bleibt die Mehrzahl der Bakterien zurück, was für die Reinzucht auf der Agarplatte von nicht zu unterschätzender Bedeutung ist.

Um Kolonien dieser Algen zu bekommen, bläst man den Inhalt der abgeschnittenen Röhrchen aus auf die Oberfläche eines festen Nährbodens von folgender Zusammensetzung:

H ₂ O	100,00 g
NH ₄ NO ₃	0,02 „
K ₂ HPO ₄	0,02 „
MgSO ₄	0,01 „
Gewässerter Agar(11)	1,5 „

Das kleine, grüne Algen enthaltende Tröpfchen wird mit dem Platindraht auf der Oberfläche des Agars verteilt, darauf wird die Platte bei 20—30⁰ C im Lichte aufgestellt. Der anorganische Nähragar wurde absichtlich gewählt, um die Entwicklung der Bakterien möglichst zu unterdrücken. Die betreffenden Arten außer Chlam. variabilis und Carteria ovata wachsen auf diesem Substrate auf Grund ihrer Autotrophie mehr oder weniger gut, jedoch bleiben die Kolonien immer klein und erreichen z. B. für Chlorogonium und Chlam. intermedia nach 2 Wochen nie größere Dimensionen als etwa 0,5—1 mm im Durchschnitt. Die Kolonien von Spondylomorum sind aber noch kleiner (bis 0,2 mm), so daß es zweckmäßig ist, die Bakterienkolonien möglichst klein zu halten, was eben erreicht wird durch den an organischen Substanzen armen Boden. Beim Gebrauch von organischem Nähragar wachsen die Bakterien in dünnen ausgebreiteten Kolonien, die sehr leicht die kleinen Algenkolonien verunreinigen. Macht man eine sehr dünne Aussaat auf organischem Substrate, um diese Schwierigkeit zu beseitigen, so bleibt das Resultat doch immer unsicher infolge des langsamen Wachstums der Algen. Man kann den Verlauf der Kultur viel besser verfolgen, wenn eine ziemlich große Anzahl Zellen ausgesät wird, die man nach einer Seite hin mit dem Platindraht auf der Platte austreicht.

Die Anwendung des organischen Nährbodens hat bei Chlor. euchlorum, Spond. quat., Chlam. Ehrenbergii und interm. zum Ziele geführt, nicht aber bei Chlam. variabilis und Carteria ovata. Es ist denn auch nicht gelungen, letztere zwei Arten in Reinkulturen zu bekommen, auch dann nicht, als die verschiedensten organischen Substrate wie z. B. Erbsenlaubdekot-Gelatine mit 2⁰/₀ Rohrzucker, Grachtenwassergelatine, Calciumacetat-Agarplatten, Pferdemitagar, Pepton und Peptonglukoseagarplatten und der noch zu besprechende Pankreasgelatineagar in Anwendung kamen. Stets blieben die Zellen ganz

unverändert auf der Oberfläche der Platten liegen oder bildeten nach 1 oder 2 Teilungen formlose desorganisierte Klümpchen, die nicht mehr entwicklungsfähig waren.

Für die Reinkultur von *Polytoma uvella* kommen nur organische Nährböden in Betracht, weil diese Art sich nicht autophytisch ernähren kann. Sehr leicht bekommt man kleine, gelbliche Kolonien auf folgenden Agarplatten:

Leitungswasser	100.00	ccm
Pepton Witte .	1.00	g
K ₂ HPO ₄ . .	0.02	„
Agar-agar . .	1.5	„

Viel ausgiebigeres Wachstum erzielt man auf Platten, welche auf folgende Weise hergestellt werden:

In eine Flasche von 500 ccm bringt man 2 g Fibrin mit 50 g Erde und 450 ccm Leitungswasser. Dieses Gemisch läßt man einige Tage im Brutschrank bei 35° C stehen, wodurch man eine stinkende faulende Flüssigkeit erhält, welche abfiltriert und sterilisiert wird. Setzt man zu dieser Flüssigkeit 1,5% Agar-agar hinzu, so kann man hiermit Platten anfertigen, die sich für die Kultur von *Polytoma uvella* besonders gut eignen. Auf diesem faulen Fibrinflüssigkeit-Agar wächst sie sehr üppig in orangegelben Kolonien, während auf allen anderen Nährböden das Wachstum nur sehr spärlich bleibt. Nur ist das Arbeiten mit diesem Agar sehr unangenehm, wegen des sehr widerlichen Geruches.

Die nach dem Plattenverfahren hergestellten Reinkulturen kann man in der üblichen Weise auf schrägem Agar in Röhren weiterzüchten.

7. Die Ernährung der einzelnen Arten.

Von den fünf in Reinkultur gebrachten Organismen sind *Chlorogonium euchlorum* und *Polytoma uvella* in ernährungsphysiologischer Hinsicht genauer untersucht worden, während für die beiden Chlamydomonaden und *Spondylomorom quaternarium* diese Versuche noch nicht zu Ende gebracht sind. Es handelt sich darum, die bis jetzt benutzten Fäulnisflüssigkeiten durch Nährlösungen von bekannter Zusammensetzung zu er-

setzen und überdies den Einfluß der Assimilationstätigkeit dabei zu berücksichtigen.

Zu diesem Zweck wurden die Algen in den verschiedenartigst hergestellten sterilen Nährlösungen sowohl im Dunkeln als auch im Lichte kultiviert.

Die beiden Versuchsreihen ergaben, wie es schon zu erwarten war, für *Polytoma* keinen Unterschied, die Kulturen entwickelten sich im Lichte ebensogut als im Dunkeln; für *Chlorogonium* dagegen ergab sich im Lichte viel besseres Wachstum als im Dunkeln.

a) *Polytoma uvella*.

Weil *Polytoma uvella* auf Peptonagarplatten sich züchten ließ, erwartete ich, daß sie sich in einer Peptonlösung vermehren würde. Es war dies aber nicht der Fall. Die lebenden Zellen der Einsaat, die unter dem Mikroskop kontrolliert wurden, vermehrten sich nicht, und die Flüssigkeit blieb vollständig klar. Auch nach Zusatz von verschiedenen Zuckerarten usw. zu der Peptonlösung war *Polytoma* nicht imstande, sich bedeutend zu vermehren.

In allen den folgend genannten Lösungen war kein Wachstum zu erzielen:

Leitungswasser	$\frac{1}{2}$ %	Pepton	Witte.	
„	$\frac{1}{2}$ „	„	„	$\frac{1}{2}$ % Glukose.
„	$\frac{1}{2}$ „	„	„	$\frac{1}{2}$ „ Saccharose.
„	$\frac{1}{2}$ „	„	„	$\frac{1}{2}$ „ Glycerin.
„	$\frac{1}{2}$ „	„	„	$\frac{1}{2}$ „ Mannit.
Fleischbouillon	$\frac{1}{2}$ „	Pepton.		
„		ohne Pepton.		
„		mit dem gleichen Volumen Wasser verdünnt.		
Malzextrakt.	· ·			
Idem	mit dem 10fachen	Volumen Wasser	verdünnt.	
Leitungswasser	$\frac{1}{2}$ %	Pepton	$\frac{1}{2}$ %	Ammonacetat $\frac{1}{20}$ K_2HPO_4 .
„		„	$\frac{1}{2}$ „	Ammoncitrat „
„		„	$\frac{1}{2}$ „	Natriummalat „
„		„	$\frac{1}{2}$ „	Ammonlaktat „
Verdünnte Fleischbouillon	mit verschiedenartigen	Amidosäuren		
	(Leucin, Alanin, Glycocol, Tyrosin).			

Die einzige Flüssigkeit, mit welcher ein schwaches Wachs-

tum von *Polytoma* erzielt wurde, war die von Beijerinck (26) für die Anfertigung der Gelatineplatten, zur Isolierung der Knöllchenbakterien angegebene: Erbsenlaubdekot mit 2 % Saccharose.

Eine Nährflüssigkeit, welche für die übrigen grünen Algen sehr gute Resultate gab, war eine 5 % Gelatinelösung, welche mit 0,1 Gramm Pankreatin act. (Merck.) 24 Stunden bei 40° C gestanden hatte. Die Lösung, welche ein kompliziertes Gemisch der Abbauprodukte des Eiweißes enthielt, wurde nach Zusatz von $\frac{1}{50}$ % K_2HPO_4 sterilisiert. Diese durch Pankreas verflüssigte Gelatine ist von Beijerinck (27) für die Kultur von Grünalgen angewendet worden. Diese Nährlösung aber erwies sich für *Polytoma* als nicht tauglich; auch nach Zusatz von verschiedenen Zuckerarten (Glukose, Saccharose, Maltose u. a.) wurde nur ein sehr dürftiges Wachstum beobachtet.

Die von Ogata (4) angegebene Nährlösung habe ich nicht angefertigt, weil das von ihm erwähnte Algengemisch mir nicht zur Verfügung stand; wohl wurde versucht, es zu ersetzen durch ein Dekot von grünen Algen, jedoch ohne Erfolg. Endlich wurde aber ein sehr günstiger Nährboden gefunden, nämlich die schon genannte faule Fibrinflüssigkeit. Mit diesem stinkenden Material wurden die schönsten Reinkulturen von *Polytoma uvella* erhalten, so daß nach einiger Zeit ein dicker, orangefarbiger Bodensatz sich bildete. Durch Zusatz von 1 % Glukose oder Glycerin konnte das Wachstum noch etwas gesteigert werden.

Wie man sieht, ist *Polytoma uvella* in ihrer Ernährung sehr anspruchsvoll. Ob die starke Entwicklung dieser Art in den faulenden Eiweißkulturen bedingt wird durch das Vorhandensein einer oder mehrerer spezifischen, chemischen Substanzen, oder ob die Kombination mehrerer, für sich allein nicht ausreichender Stoffe maßgebend ist, kann bis jetzt noch nicht entschieden werden. Jedenfalls geht aus den Versuchen hervor, daß man es hier mit einem ausgeprägten Saprophyten zu tun hat.

b) *Chlorogonium euchlorum*.

Im Gegensatz zu *Polytoma uvella* läßt diese Art sich verhältnismäßig leicht in Nährlösungen von verschiedener Zusammensetzung züchten.

Schon in einer mineralischen Nährlösung:

Leitungswasser	. 100	ccm
NH ₄ NO ₃	0,02 g
K ₂ HPO ₄	0,02 g
FeCl ₃	eine Spur

bekommt man im Lichte, wenn auch erst nach einiger Zeit (3 Wochen bis 1 Monat), ziemlich gutes Wachstum. Durch Zusatz von verschiedenen organischen Substanzen, sowohl Eiweißkörpern und Zuckerarten als organischen Salzen und Amidosäuren wurde versucht, das Wachstum zu beschleunigen und so die Assimilierbarkeit dieser Verbindungen durch Chlorogonium festzustellen. Das Resultat dieser Versuche macht folgende Tabelle übersichtlich.

Zusammensetzung der Nährlösung		Wachstum	
		nach 3 Wochen im Lichte	im Dunkeln
Leitungswasser	1/50 K ₂ HPO ₄ ; 1/50 NH ₄ NO ₃ Spur FeCl ₃	mäßig	kein
"	" " " 1/50 " " I Glukose	sehr mäßig	"
"	" " " 1/50 " " I Saccharose	"	"
"	" " " 1/2 Asparagin	"	"
"	" " " 1/2 " " I Glukose	"	"
"	" " " 1/50 NH ₄ NO ₃ 1/2 Alanin	kein	"
"	" " " 1/50 " " 1/2 Glycocol	sehr schwach	"
"	" " " 1/50 " " 1/2 Glukosamin	"	"
"	" " " 0,2 Alanin, 0,2 Glycocol	"	"
"	" " " 0,2 Glukosamin	sehr mäßig	"
"	" " " 1/2 Leucin	schwach	"
"	" " " 1/50 NH ₄ NO ₃ 2 Calc. acetat	mäßig	"
"	" " " 0,1 Pepton Witte	schwach	"
"	" " " 2 " " "	kein	"
"	" " " 2 " " " I Glukose	"	"
Gelatine-Pankreas-Lösung	sehr gut	schwach
"	" " " I Glukose	gut	kein
"	" " " I Saccharose	"	"
"	" " " I Maltose	"	schwach
"	" " " I Glycerin	sehr gut	kein
"	" " " 0,1 Pepton Witte	mäßig	"
"	" " " I Pepton Witte	schwach	"
"	" " " 10 Glukose	kein	"
Malzextrakt	"	"
"	mit 5fachem Volumen Wasser verdünnt	gut	"
Fleischbouillon	1/2 Pepton	schwach	"
"	ohne Pepton	mäßig	"
"	2 Pepton	kein	"
Erbsenlaubdekokt	2 Saccharose	mäßig	"
Molke	kein	"
Faule Fibrinlösung (unverdünnt)	"	"
"	(verdünnt 10fach)	gut	"

Hieraus ist ersichtlich, daß es sich bei der Ernährung von *Chlorogonium euchlorum* um ein Gemisch von Abbauprodukten von Eiweißkörpern handelt, entstanden durch die Wirkung des Trypsins.

Man konnte vermuten, daß Pepton und die Eiweißkörper aus der Fleischbouillon ausreichen, oder daß vielleicht gewisse Amidosäuren als Abbauprodukte der Peptone sich gut zu der Ernährung eignen würden. Jedoch war dies nicht der Fall, sogar zeigte Pepton Witte eine ausgeprägt giftige Wirkung auf *Chlorogonium*, und es wirkte schon eine Dosis von 0,1% hemmend auf die Entwicklung.

Die Amidosäuren, welche in Anwendung kamen, schienen ungünstig auf die Entwicklung zu wirken, jedenfalls blieb das Wachstum schwächer als in der mineralischen Nährlösung für sich allein.

Auch der Zusatz von Zuckerarten in kleineren Mengen ist für *Chlor. euchlorum* ziemlich gleichgültig; ja, es zeigte sich der Zusatz von Glukose und Saccharose ungünstig. Mit Glycerin dagegen wurde sehr schönes Wachstum erhalten. Höhere Zuckerkonzentration (10% Glukose) wird von *Chlorogonium* nicht ertragen. Aus der Tabelle wird es deutlich, daß *Chlorogonium* sich mit Vorliebe mixotroph ernährt, sich aber je nach den Umständen auch rein autotroph oder rein saprophytisch ernähren kann.

Über die Änderungen, welche die Form der Zellen von *Chlorogonium* in den verschiedenen Lösungen erleidet, könnte noch manches gesagt werden. Jedoch hier sei nur kurz erwähnt, daß in den, Zucker oder Pepton enthaltenden Lösungen Zellen gebildet werden, welche von der üblichen Form sehr abweichen, sie sind oft ganz unregelmäßig, mit großen Vakuolen, was auf irgend einen schädlichen Einfluß hinweist.

Von den anderen Arten, welche noch nicht weiter in dieser Richtung untersucht worden sind, sei nur kurz erwähnt, daß *Chlam. Ehrenbergii* und *Chlam. intermedia* in der anorganischen Lösung, sowie auch in der Pankreasgelatineflüssigkeit sich gut züchten ließen; daß *Spondylomorom quatern.* in der ersteren sehr schlecht wuchs und ziemlich gut in der letzteren. Von *Chlamyd. variabilis* und *Carteria ovata*, welche nicht in Rein-

kultur zu bekommen waren, wurde festgestellt, daß sich beide ebensowenig autotroph als heterotroph ernähren können und nur bei mixotropher Nahrung gedeihen.

Aus einigen vorläufigen Versuchen ist hervorgegangen, daß die Temperatur für das optimale Wachstum dieser Volvocaceen ungefähr bei 30° C gelegen ist.

8. Kurze Beschreibung der kultivierten Volvocaceen.

Hierzu Tafel 2.

Obwohl die meisten der von mir kultivierten Arten schon überbekannt sind, und von verschiedenen Autoren (28) in morphologischer Hinsicht eingehend untersucht und beschrieben sind, erscheint es mir doch zweckmäßig, hier kurz die von mir beobachteten wichtigsten Merkmale derselben anzuführen, wobei die Tafel zur Erläuterung dienen soll.

Chlorogonium euchlorum, Ehrb.

(Fig. I. a, b, c, d, e, f.)

Zellen von spindelförmiger Gestalt, drei- bis mehreremal länger als breit, mit zugespitzten Enden; Membran dünn und anliegend; zwei Zilien, welche nicht länger sind als die halben Zellen; zahlreiche Pyrenoide (4—32), unregelmäßig verteilt in einem, fast den ganzen Körper ausfüllenden, hellgrünen Chromatophor; Augenfleck stäbchenförmig in der Nähe der Zilien; kontraktile Vakuolen zahlreich (12—16) im ganzen Körper verteilt; Zellkern zentral.

Dimensionen: L. 30—50 μ , B. 8—12 μ .

Vermehrung durch doppelte Querteilung des Inhalts in 4—8 Tochterzellen, welche aneinander vorbeiwachsen; geschlechtlich durch Gametenbildung (16—32), Kopulation derselben, Bildung von rötlichbraunen Zygoten.

Chlamydomonas variabilis, Dangeard.

(Fig. II. a, b, c, d, e.)

Zellen elliptisch oder mehr zylindrisch, dünne, anliegende Membran mit kleinem Hautwärtchen; 2 Zilien, welche zweimal so lang sind als der Zellkörper; Augenfleck scheibenförmig in der vorderen Hälfte gelegen; Chromatophor hellgrün, fast die

ganze Zelle ausfüllend, undeutlich schalenförmig, ohne Pyrenoid, von feinkörniger Struktur; zwei kontraktile Vakuolen; Zellkern zentral.

Dimension: 12—20 μ .

Vermehrung durch Querteilung in 4—8 Zoosporen; Gameten und Zygotenbildung wie bei *Chlorogonium*.

Chlamydomonas Ehrenbergii, Goroschankin.

(Fig. IV. a, b, c.)

Zellen abgerundet oder an dem Vorderende etwas zugespitzt; Membran dünn, meist anliegend ohne Hautwärtchen; Chromatophor hellgrün, muldenförmig; großes zentrales oder subzentrales Pyrenoid, meist rund, zuweilen mehr eckig; Augenfleck scheibenförmig, blaßrot, im vorderen Drittel; zwei Zilien von etwas mehr als Körperlänge; Zellkern vor dem Pyrenoid; zwei kontraktile Vakuolen an der Basis der Zilien.

Dimension: 15—25 μ .

Vermehrung durch Längsteilung; Gameten und Zygoten beobachtet. Doppelindividuen mit zwei Pyrenoiden, zwei Augenflecken, vier Zilien und einem breiten, flachen Hautwärtchen zwischen den in zwei Paaren angeordneten Zilien.

Chlamydomonas intermedia, Chodat.

(Fig. V. a, b, c, d.)

Zellen länglich, oval, oft etwas zugespitzt; Membran bei den jungen schwärmenden Individuen dünn und anliegend, bei den älteren unbeweglichen, sich teilenden Individuen dick, ohne Hautwärtchen; Pyrenoid median; Augenfleck im vorderen Drittel; zwei Zilien von etwas mehr als Körperlänge; zwei kontraktile Vakuolen; Palmellenstadien treten viel auf.

Dimension: 10—18 μ .

Vermehrung im Anfang durch Längsteilung. Gameten und Zygotenbildung nicht beobachtet.

Spondylomorom quaternarium, Ehrb.

(Fig. III. a, b, c, d, e.)

Zellen zu 8 oder 16 in Familienstöcken vereinigt, ohne gemeinschaftliche Hülle. Die Zellen, welche nur locker zusammenhängen und leicht voneinander getrennt werden können, kommen in den normalen Kulturen nur sehr selten vereinzelt vor. Die

Kolonien bestehen meist aus 4, der Längsachse nach übereinanderliegenden, kreuzförmig angeordneten, alternierenden Schichten von je 4 Zellen.

Die einzelnen Individuen eiförmig, oft mit zu einem spitzen Punkt verjüngtem Hinterende; Membran dünn und anliegend, an der hinteren Spitze aber oft abstehend, ohne Hautwärtchen; vier Zilien von etwas mehr als Körperlänge in geringer Entfernung voneinander entspringend; Chromatophor grün, die ganze Zelle füllend, ohne Pyrenoid, mit feinkörniger Struktur; ein stäbchenförmiger Augenfleck im hinteren Teil eben unter der Mitte gelegen; Zellkern zentral, etwas vor der Mitte; zwei kontraktile Vakuolen an der Basis der Zilien.

Dimensionen: Der Zellen, L. 10—20 μ , B. 8—15 μ .

Der Familien, L. 20—45 μ , B. 15—40 μ .

Vermehrung durch Längs- und Querteilung in 4, 8 oder 16 Zoosporen, welche zusammen die neue Kolonie bilden. Gameten und Zygotenbildung nicht beobachtet.

Carteria ovata Spec. nov.

(Fig. VI. a, b, c, d.)

Zellen eiförmig, am Hinterende verjüngt; Membran bei den älteren Individuen ziemlich dick, meist anliegend, zuweilen am Hinterende etwas abstehend, mit kleinem eckigen Hautwärtchen zwischen den in zwei Paaren angeordneten vier Zilien; Chromatophor grün, die ganze Zelle ausfüllend, ohne Pyrenoid, bei den älteren Individuen mit stark lichtbrechenden Stärkekörnern gefüllt; ein, zuweilen zwei blaßrote Augenflecke von scheibenförmiger, etwas eckiger Gestalt im vorderen Drittel des Körpers; Zellkern etwas vor der Mitte, eben sichtbar; zwei kontraktile Vakuolen an der Basis der Zilien.

Dimensionen: L. 15—25 μ , B. 8—15 μ .

Vermehrung durch Längs- und Querteilung in 2—4 Zoosporen; Gameten und Zygoten beobachtet.

Polytoma uvella Ehrb.

(Fig. VII. a, b, c.)

Zellen oval, Membran dünn und anliegend, bei älteren sich teilenden Individuen oft dick und abstehend ohne Hautwärtchen;

zwei Zilien; ein grüner Chromatophor nicht vorhanden; Körper meist ganz ausgefüllt mit Stärkekörnern besonders in stark faulenden Flüssigkeiten; Augenfleck fehlt meistens, im Körper sind oft kleine braune Pigmentkörnchen in wechselnder Anzahl ungleichmäßig verteilt; Zellkern zentral; zwei kontraktile Vakuolen.

Dimensionen: L. 10—20 μ , B. 6—12 μ .

Vermehrung durch Längs- und Querteilung; geschlechtliche Fortpflanzung wurde nicht untersucht.

9. Resultate.

Fassen wir die Resultate dieser Untersuchungen kurz zusammen, so ergibt sich folgendes:

1. Durch Anhäufung mit faulenden Eiweißkörpern im Lichte bekommt man aus verschiedenen Impfmaterialien Algenkulturen, worin sich nur bestimmte Volvocaceen vorfinden (Chlorogonium euchlorum, einige Chlamydomonaden, Spondylomorom quaternarium und Polytoma uvella).

2. Werden diese Versuche im Dunkeln ausgeführt, so können sich auch Volvocaceen entwickeln und zwar Polytoma uvella und unter Umständen Chlorogonium euchlorum.

3. Die Kalksalze von verschiedenen organischen Säuren, sowie auch die bei ihrer Zersetzung organische Säuren liefernden Zellulose und Pektin eignen sich sehr gut zur Anhäufung einer bestimmten grünen Volvocacee: *Carteria ovata* n. sp.

4. Das Vorkommen dieser Algen muß ein sehr allgemeines sein.

5. Sie sind alle gegen Säure sehr empfindlich, dagegen weniger gegen Alkali.

6. Sie produzieren bei geringem Sauerstoffbedürfnis durch Kohlensäureassimilation eine große Menge Sauerstoff und fördern auf diese Weise stark die Reinigung der Schmutzwässer.

7. Die kultivierten Volvocaceen zeigen außer Polytoma uvella eine schon früher beobachtete, starke Lichtempfindlichkeit und reagieren sowohl positiv als negativ phototaktisch, je nach der Intensität des Lichtes und ihrer Lichtstimmung, welche letztere durch verschiedene Faktoren beeinflusst wird.

8. Vermittelst dieser phototaktischen Eigenschaft und ihres

verschiedenen Verhaltens beim Austrocknen kann man die Arten bis zu einem gewissen Grade von einander trennen und von Bakterien reinigen.

9. Die Mehrzahl derselben kann nach den üblichen bakteriologischen Arbeitsmethoden reingezüchtet werden, da sie auf festen Nährsubstraten Kolonien bilden.

10. Für die organische Ernährung dieser Organismen haben die Abbauprodukte des Eiweißes durch die Trypsinwirkung die größte Bedeutung; für *Carteria ovata* reichen auch die organischen Kalksalze aus.

11. Die genannten Algen gehören außer *Polytoma uvella*, welche rein saprophytisch sich ernährt, zu den ausgeprägt mixotrophen Organismen.

Am Ende dieser Abhandlung ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Prof. Dr. M. W. Beijerinck für seine Hülfe und vielen Ratschläge meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

Mikrobiologisches Laboratorium der
Technischen Hochschule zu Delft.

Anmerkungen.

- 1) Beijerinck, M. W., Kulturversuche mit Zoochlorellen, Lichenen-Gonidien und anderen niederen Algen. Bot. Ztg. 1890. **48**.
- 2) Ehrenberg, Die Infusionstierchen als vollkommene Organismen. Berlin 1838. S. 122.
- 3) Zumstein, H., Zur Morphologie und Physiologie der *Euglena gracilis* Klebs. Diss. Basel 1899.
- 4) Ogata, Über Reinkulturen gewisser Protozoen. Centralbl. f. Bakt. I. 1893 **14**, 165.
- 5) Klebs, G., Die Bedingungen der Fortpflanzung bei einigen Algen und Pilzen. Jena 1896. S. 424.
- 6) Frank, Th., Kultur und chemische Reizerscheinungen der *Chlamydomonas tingens*. Bot. Ztg. 1904. **62**, 153.
- 7) Strasburger, Ed., Wirkung des Lichtes und der Wärme auf Schwärm-sporen. Jena 1878.
- 8) Stahl, E., Über den Einfluß von Richtung und Stärke der Beleuchtung auf einige Bewegungserscheinungen im Pflanzenreiche. Bot. Ztg. 1880. **38**, 410.
- 9) Famintzin, Jahrb. f. wiss. Bot. 1867. **6**, 20.
- 10) Artari, A., Untersuchungen über Entwicklung und Systematik einiger Protococcoideen. Diss. Basel 1892.

- 11) Beijerinck, M. W., Über oligonitrophile Mikroben. *Centralbl. f. Bakt. II.* 1901. **7**, 561.
 - 12) Beijerinck, M. W., Über die Einrichtung einer normalen Buttersäuregärung. *Centralbl. f. Bakt. II.* 1896. **2**, 699.
 - 13) Beijerinck, M. W., Anhäufungsversuche mit Ureumbakterien. *Centralbl. f. Bakt. II.* 1901. **7**, 45.
 - 14) Mazé, Sur la fermentation forménique et le ferment qui la produit. *Compt. rend. de l'Ac. des Sciences* 1903. **137**, 887.
 - 15) Omelianski, W., Über Methanbildung in der Natur usw. *Centralbl. f. Bakt. II.* 1906. **15**, 673.
 - 16) Söhngen, N. L., Het ontstaan en Verdwijnen van Waterstof en Methaan enz. *Dissertatie Delft* 1906.
 - 17) van Delden, A., Beitrag zur Kenntnis der Sulfatreduktion durch Bakterien. *Centralbl. f. Bakt. II.* 1903. **11**, 81.
 - 18) Omelianski, W., Über die Gärung der Cellulose. *Centralbl. f. Bakt. II.* 1902. **8**.
 - 19) Beijerinck, M. W., Photobacteria as a reactive in the investigation of the Chlorophyllfunction. *Kon. Acad. v. Wetensch. Amsterdam* 1901.
 - 20) Beijerinck, M. W., Über Atmungsfiguren beweglicher Bakterien. *Centralbl. f. Bakt.* 1893. **14**, 827.
 - 21) Schmidt, *Diss. Breslau* 1870. *Strasburger cit.*
 - 22) Oltmanns, Fr., Über die photometrischen Bewegungen der Pflanzen. *Flora* 1892. **79**, 183.
 - 23) Stahl, E., Einige Bemerkungen über den richtenden Einfluß des Lichts auf Schwärmosporen 1879. *Sep. a. Verh. d. phys. med. Gesellsch. zu Würzburg N. F.* **14**. Pfeffer, W., *cit. Pflanzenphysiologie* 1904. **2**, 772.
 - 24) Massart, Celakowsky, Elfring., Pfeffer, W., *cit. Pflanzenphysiologie.* **2**, 773.
 - 25) *Strasburger, Ed., a. a. O. S. 66.*
 - 26) Beijerinck, M. W., Die Bakt. der Papilionaceenknöllchen. *Bot. Ztg.* 1888. **46**, 763.
 - 27) Beijerinck, M. W., Over gelatinekulturen van éencellige wieren. *Centralbl. f. Bakt.* 1890. **8**, 460.
 - 28) Für das Studium der Arten wurde folgende Literatur benutzt:
Ehrenberg, Ch. G., *Die Infusionstierchen als vollkommene Organismen.* Leipzig 1838.
Stein, Fr. Ritter v., *Der Organismus der Infusionsthiere.* III. Abt. Leipzig 1878.
Goroschankin, *Beiträge zur Kenntnis der Chlamydomonaden.* *Bull. Soc. Imp. des nat. de Moscou* 1890/91. No. 3.
Dill, O., *Die Gattung Chlamydomonas.* *Jahrb. f. wiss. Bot.* 1895. **28**.
Françé, Raoul, *Die Polytomeen.* *Jahrb. f. wiss. Bot.* 1894. **26**.
Dangeard, *Mémoire sur les Chlamydomonadinées.* *Le Botaniste* 1899. VI. Serie.
Chodat, R., *Beitr. zur Kryptogamenflora der Schweiz.* **1**, H. 3. *Algues vertes de la Suisse.* Bern 1902.
-

Erklärungen der Tafel.

- Fig. I. a) *Chlorogonium euchlorum* Ehrb. Erwachsenes Individuum.
 b) „ „ „ Querteilung in 2 Zoosporen.
 c) „ „ „ Teilung in 4 Zoosporen, welche aneinander vorbeiwachsen.
 d) „ „ „ Kopulierende Gameten.
 e) „ „ „ Gamete.
 f) „ „ „ Reife Zygote.
- Fig. II. a) *Chlamydomonas variabilis* Dang. Erwachsenes Individuum.
 b) „ „ „ Querteilung.
 c) „ „ „ Weiter fortgeschrittene Teilung.
 d) u. e) „ „ „ Zoosporen.
- Fig. III. a) *Spondylomorom quaternarium* Ehrb. Junger Familienstock aus 16 Individuen bestehend.
 b) „ „ „ Idem. aus 8 Indiv. bestehend.
 c) „ „ „ Teilung.
 d) „ „ „ Produkte der Teilung vor dem Ausschwärmen der jungen Kolonie.
 e) „ „ „ Einzelnes Individuum.
- Fig. IV. a) *Chlam. Ehrenbergii* Gorosch. Erwachsene Zelle.
 b) „ „ „ „ Längsteilung.
 c) „ „ „ „ Doppelindividue.
- Fig. V. a) *Chlam. intermedia* Chodat. Junge Zoospore.
 b) „ „ „ „ Anfang des Ruhezustandes, Verdickung der Wand.
 c) „ „ „ „ Teilung.
 d) „ „ „ „ Fortgeschrittene Teilung im Ruhezustand.
- Fig. VI. a) *Carteria ovata*. spec. nov. Junges Individuum.
 b) „ „ „ „ „ Erwachsenes Stadium, im Innern Stärkekörner.
 c) „ „ „ „ „ Teilung.
 d) „ „ „ „ „ Junge Zoospore.
- Fig. VII. a) *Polytoma uvella* Ehrb. Erwachsenes Individuum, im Innern bräunliche Pigmentkörnchen.
 b) „ „ „ „ „ Teilung (schief).
 c) „ „ „ „ „ „ (längs).
- Die Vergrößerung sämtlicher Abbildungen beträgt 860.



Fig. I.

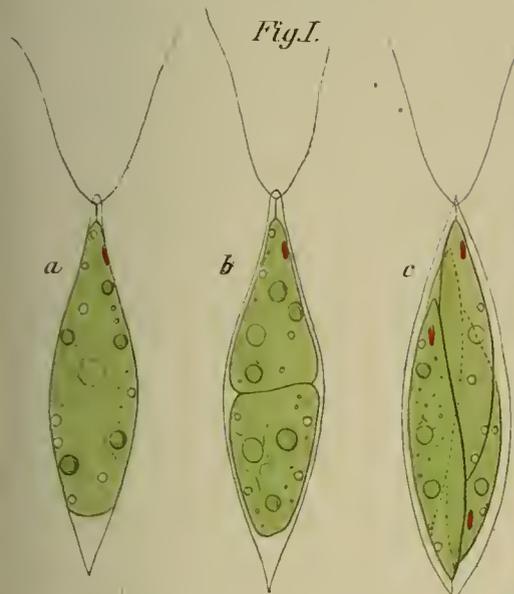


Fig. II.

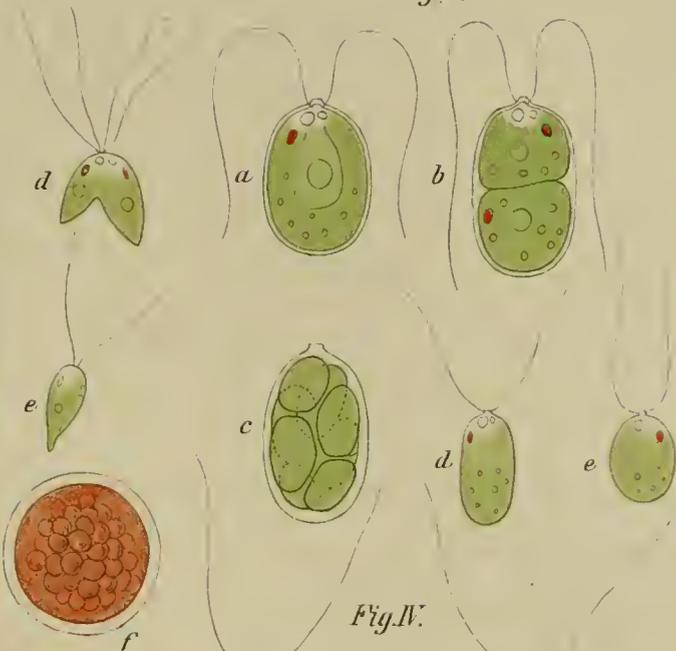


Fig. III.

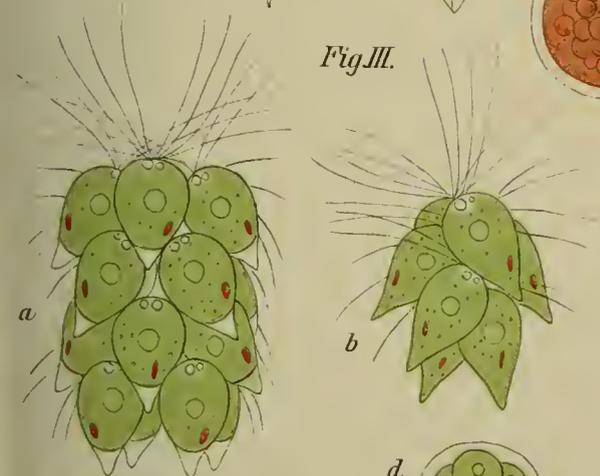


Fig. IV.

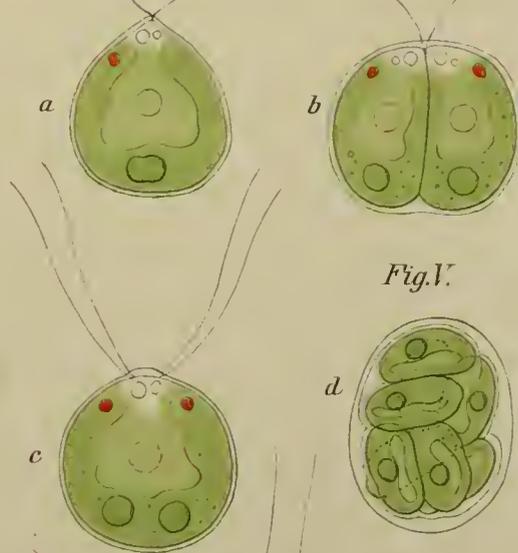


Fig. V.

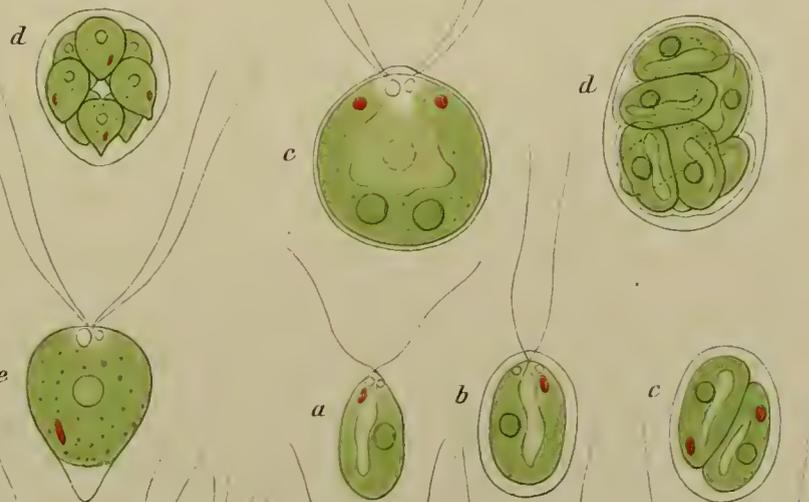


Fig. VI.

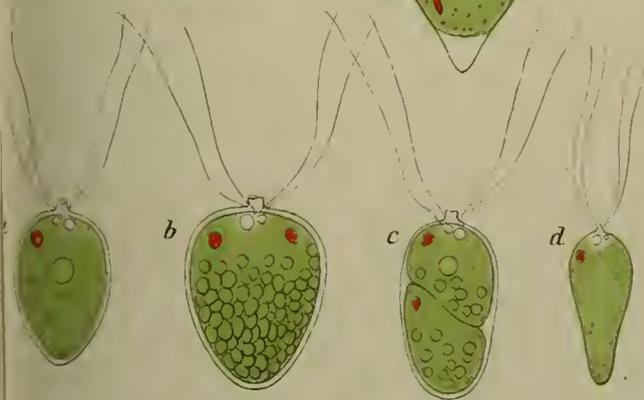
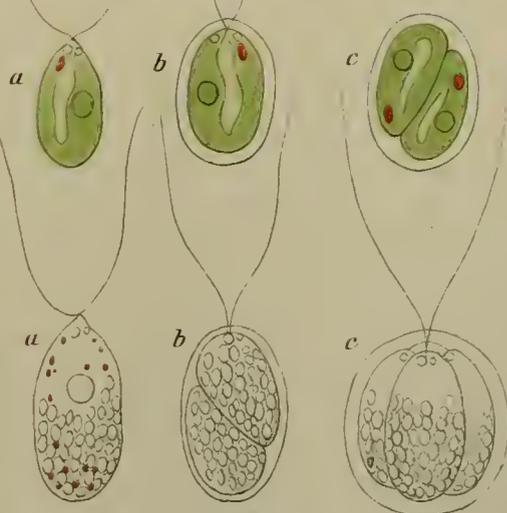


Fig. VII.



E. Laue, Luth. Inst. Berlin.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Zeitschrift für Botanik](#)

Jahr/Year: 1910

Band/Volume: [2](#)

Autor(en)/Author(s): Jacobsen H. C.

Artikel/Article: [Kulturversuche mit einigen niederen Volvocaceen. 145-189](#)