

Untersuchungen über die Ernährungsphysiologie der Chlorophyceen.

Mit besonderer Berücksichtigung von Indolylessigsäure,
Ascorbinsäure und Aneurin.

With an english summary.

Von SVEN ALGÉUS.

I. Historik.

Vom ernährungsphysiologischen Gesichtspunkt aus können die Pflanzen in zwei grosse Gruppen eingeteilt werden, nämlich die autotrophen und die heterotrophen Pflanzen. Erstere zeichnen sich dadurch aus, dass sie imstande sind, ausschliesslich von anorganischen Stoffen zu leben. Unvergleichlich am wichtigsten sind in dieser Gruppe die grünen, d.h. chlorophyllführenden Pflanzen. Mit Hilfe der Energie des Sonnenlichtes reduzieren sie das Kohlendioxyd der Luft und bauen mit dieser einzigen Kohlenstoffquelle sämtliche organischen Substanzen auf. Ihren Bedarf an Mineralnährstoffen decken sie durch Aufnahme von wasserlöslichen anorganischen Salzen. Die heterotrophen Pflanzen fordern dagegen Kohlenstoff, zuweilen auch Stickstoff in organisch gebundener Form. Es kann indessen keine scharfe Grenze zwischen auto- und heterotrophen Pflanzen gezogen werden. Auch die grünen Pflanzen können organische stickstofffreie und stickstoffhaltige Substanzen ausnutzen und mitunter zu rein heterotropher Ernährung übergehen. Eine interessante Gruppe bilden in dieser Hinsicht die Chlorophyceen. In anorganischer Nährlösung und bei Vorhandensein von Kohlendioxyd und Licht führen sie eine autotrophe Lebensweise, im Dunkeln und bei Gegenwart von geeigneten organischen Stoffen leben viele von ihnen heterotroph. Wird eine solche Lösung beleuchtet, kommt es neben der heterotrophen Lebensweise zu Kohlensäureassimilation; man spricht dann von mixotropher Lebensweise. Unter Mixotrophie

wird daher im weiteren eine Ernährungsweise verstanden, bei der ausser Kohlensäureassimilation auch eine Assimilation von organischen Stoffen stattfindet (ARTARI 1913).

Auch wenn einer Algenkultur sämtliche erforderlichen Nährstoffe in optimaler Konzentration zur Verfügung stehen und auch wenn die Bedingungen im übrigen günstig sind, so kann die Produktion oft durch einen Zusatz gewisser Extrakte mehr oder weniger unbekannter Zusammensetzung weiter erhöht werden. Hierbei dürfte es sich nicht um eine Zufuhr von Nährstoffen im klassischen Sinn handeln, sondern eher um sog. Wirkstoffe, die entweder Mineralstoffe oder auch organische Stoffe sein können. Im letzteren Fall unterscheidet man laut einer von SCHOPFER (1939) benutzten Terminologie zwischen Wachstumsfaktoren und Wuchsstoffen. Die organischen Wachstumsfaktoren beeinflussen die Assimilierbarkeit der Nährstoffe und den Plasmawuchs. Die Wuchsstoffe haben in letzter Linie einen spezifischen Einfluss auf die Formbildung.

Eine andere Terminologie wurde von NIELSEN und HARTELIUS (1932) benutzt. Sie konnten in Versuchen mit *Rhizopus suinus* zeigen, dass dieser Pilz Wirkstoffe von zweierlei Art produzierte, die sie A- und B-Wuchsstoffe nannten. Die A-Wuchsstoffe waren ätherlöslich, wurden durch Oxydation leicht zerstört und beeinflussten das Wachstum der *Avena*-Koleoptile. Die B-Stoffe waren in Äther unlöslich, wurden durch Oxydation nicht zerstört und beeinflussten die Trockensubstanzproduktion von *Aspergillus*. Laut SCHOPFERS (1939) Terminologie sind die A-Stoffe als Wuchsstoffe zu bezeichnen. Die B-Stoffe entsprechen dagegen SCHOPFERS Wachstumsfaktoren. Im folgenden werden die Ausdrücke Wuchsstoffe und Wachstumsfaktoren im SCHOPFERSchen Sinne benutzt. Da der Ausdruck Wachstumsfaktor indessen häufig in einem weiteren Sinne verwendet wird, habe ich den Ausdruck organischer Wachstumsfaktor benutzt.

Es ist eine alte Erfahrung, dass Erdabkochung das Wachstum von Grünalgen günstig beeinflusst. Diese stimulierende Wirkung ist von PRINGSHEIM (1935 a, 1936), LWOFF und LEDERER (1935) sowie von HARVEY (1939) studiert worden. PRINGSHEIM (1936) rechnet mit vier Möglichkeiten: 1) Entgiftung, 2) H-Ionen-Pufferung, 3) Nährelemente und 4) Wirkstoffe. Die drei ersten Alternativen sind allerdings von Bedeutung, aber sie genügen nicht, um die günstige Wirkung von Erdabkochung ganz zu erklären. Man muss statt dessen die Gegenwart von Wirkstoffen annehmen. Als Versuchsorganismen verwendete PRINGSHEIM *Polytoma uvella*, *Chlorogonium euchlorum*, *Chilomonas*

paramaecium und *Polytomella coeca*, sämtliche sog. Azetatflagellaten (PRINGSHEIM 1935 b), die als Kohlenstoffquelle Azetat benutzen und durch Erdabkochung stark stimuliert werden. Der wirksame Bestandteil war organischer Natur, wurde an Kohle adsorbiert, war unlöslich in Äther und Alkohol und konnte durch Oxydation mittels Wasserstoffperoxyd zerstört werden. PRINGSHEIMS Ergebnisse wurden im grossen von LWOFF und LEDERER (1935) bestätigt.

HARVEY (1939) fand es unmöglich, die Diatomee *Ditylum brightwelli* in künstlichem Meerwasser zu vermehren, wenn dieses nicht mit Erdabkochung oder Algenextrakt versetzt wurde. Der wirksame Bestandteil der Extrakte hatte den Charakter eines Wirkstoffes und konnte in zwei Stoffen separiert werden. Der eine derselben wurde an Kohle adsorbiert und war in Butylalkohol unlöslich, der andere wurde nicht adsorbiert und war in wasserhaltigem Butylalkohol löslich. Bei gleichzeitigem Zusatz addierten sich die Wirkungen und es wurde eine erhebliche Produktion erzielt.

Umfassende Untersuchungen über wachstumsstimulierende Stoffe des Meerwassers wurden von H. KYLIN und Mitarbeitern ausgeführt. So konnte DE VALÉRA (1940) zeigen, dass Meerwasser der Oberfläche für die Entwicklung von *Enteromorpha* günstiger war als solches aus 30 m Tiefe. Diese Unterschiede bestanden auch, nachdem das Wasser mit genügenden Mengen von Nährsalzen versetzt worden war. H. KYLIN (1941) konnte DE VALÉRAS Ergebnisse bestätigen. Er fand ferner, dass das Oberflächenwasser der *Fucus-Ascophyllum*-Zone bedeutend günstiger war als das Oberflächenwasser der freien See. Hierbei stellte sich heraus, dass das bessere Wachstum mit Wasser von dieser Algenzone nicht nur auf einen höheren Gehalt an Mineralnährstoffen, sondern auch auf das Vorhandensein anderer Stoffe unbekannter Natur zurückzuführen war. Wahrscheinlich handelte es sich um organische Stimulantia (Bios-Stoffe), die von der Algenvegetation abgesondert werden. Ähnliche Erfahrungen machte M. ANDERSSON (1942).

Mit Hinblick auf die von KYLIN und ANDERSSON erhaltenen Resultate studierte SUNESON (1942) den Einfluss von Exsudaten lebender Algen sowie von Algendekokten auf die Entwicklung von *Enteromorpha* und *Ulva*. Frisches Algenmaterial, das einen Tag im Wasser gelegen war, gab an das Wasser Stoffe ab, die das Wachstum stimulierten. Der positive Effekt zeigte sich auch in Lösungen mit optimaler Konzentration von Nährsalzen. SUNESON hält es für wahrscheinlich, dass dieser auf organische Stoffe vom Charakter der Wirkstoffe oder möglicherweise auf sog. Mikroelemente zurückzuführen ist. In einer späteren

Arbeit konnte SUNESON (1943) zeigen, dass sowohl organische wie anorganische Stoffe mitwirkten.

Im Heringsmehl fand NAUMANN (1936) ein ausgezeichnetes Mittel um eine Hochproduktion von Grünalgen herbeizuführen. Der günstige Einfluss des Heringsmehls dürfte zu grossem Teil auf seinem beträchtlichen Gehalt an organischen Stickstoffnährstoffen sowie Phosphat beruhen (HANSSON 1926). Es erscheint jedoch kaum möglich, die Wirkungen nur mit Hilfe dieser Faktoren zu erklären. Laut NAUMANN muss vielmehr angenommen werden, dass das Heringsmehl spezielle Substanzen enthält, die das Wachstum der Algen beeinflussen. Von Vitaminen konnten A-, B- und D-Vitamin nachgewiesen werden. C-Vitamin fehlte dagegen.

Beim Studium von Wirkstoffen ist man auf zwei Wegen vorgegangen. Einerseits ist man von Extrakten mit starken physiologischen Wirkungen ausgegangen und hat mit Hilfe von chemischen und physiologischen Methoden die wirksamen Bestandteile zu isolieren versucht. Dass eine solche Methode, die zu Beginn die einzig mögliche ist, zu positiven Ergebnissen führen kann, das zeigt die ganze Vitaminforschung. Andererseits ist man auch von schon isolierten Substanzen mit bekannter physiologischer Aktivität ausgegangen und hat diese an lebendem Material verschiedener Art geprüft. Beide Methoden sind innerhalb der Algenphysiologie zur Verwendung gelangt. Von chemisch definierbaren Substanzen, die in erster Linie die Aufmerksamkeit als Wirkstoffe für Algen auf sich gelenkt haben, sind zu erwähnen Indolyl-3-essigsäure (Heteroauxin), l-Ascorbinsäure (Vitamin C) sowie Aneurin (Vitamin B₁). (Die synonymen Bezeichnungen werden im weiteren nebeneinander benutzt.)

Die ersten Untersuchungen über die Wirkungen der Indolylessigsäure auf Grünalgen wurden von YIN sowie LEONIAN und LILLY ausgeführt. YIN (1937) verwendete als Versuchsorganismus *Chlorella vulgaris* und fand, dass Indolylessigsäure in schwächeren Konzentrationen (1—40 mg je l) eine Vergrößerung des Zellendiameters bedingte. Höhere Konzentrationen hatten eine schädliche Wirkung. In bezug auf das Gesamtwachstum in den Kulturen konnte kein Effekt verzeichnet werden. Der Ertrag wurde durch Zentrifugieren und Bestimmung der Trockensubstanz ermittelt. LEONIAN und LILLY (1937) untersuchten den Einfluss von Indolylessigsäure auf nicht weniger als fünf verschiedene Arten, nämlich *Chlorella miniata*, *Chlorella pyrenoides*, *Cystococcus cohaerans*, *Oocystis naegeli* sowie *Scenedesmus flavescens*. In der Konzentration 1 mg je l wirkte Indolylessigsäure zuerst hemmend, später

war das Wachstum gleich stark wie in der Kontrolle. Die Konzentration 10 mg je l zeigte deutliche Giftwirkung. LEONIAN und LILLY zogen hieraus die Schlussfolgerung, dass Indolylessigsäure eher ein wachstumshemmender als ein wachstumsfördernder Stoff ist. BRANNON (1937) studierte den Einfluss von Indolylessigsäure auf *Chlorella vulgaris*, *Chlorella pyrenoidosa* sowie *Oocystis sp.* Er fand hierbei, dass die Substanz einen stimulierenden Einfluss auf die Zellteilung hatte.

Im folgenden Jahr wurde eine eingehende Untersuchung von PRATT (1938 a) über das Verhalten von *Chlorella* zu Indolylessigsäure und homologen Verbindungen veröffentlicht. PRATT fand, dass Indolylverbindungen einen stimulierenden Effekt auf die Zellteilung hatten. Dagegen konnte er keine Veränderung der Zellengrösse beobachten. Indolylessigsäure hatte den stärksten Effekt, danach folgten Propionsäure und Buttersäure in nun genannter Ordnung. ELLIOTT (1938) erhielt gleichfalls eine erhebliche Zunahme der Zellteilungsgeschwindigkeit bei *Euglena gracilis* unter dem Einfluss von Indolylessigsäure und Homologen.

BRANNON und BARTSCH (1939) verwendeten als Versuchsorganismen *Chlorella vulgaris*, *Coccomyxa simplex* sowie *Mesotaenium caldarium*. Es wurden Indolylessigsäure, Indolylpropion-, Indolylbutter-, Naphtalinessig- sowie Phenyllessigsäure geprüft. Sämtliche Verbindungen hatten eine stimulierende Wirkung auf die Zellteilung von *Chlorella* und *Coccomyxa*. Bei *Mesotaenium* konnte keine Zunahme des Ernteertrages festgestellt werden, in gewissen Fällen dagegen eine Tendenz zu Zellenvergrößerung.

Laut H. KYLIN (1942) stimulierte Heteroauxin die Zellteilung von *Ulva lactuca* und *Enteromorpha linza*. Eine fortlaufende Behandlung war günstiger als eine kurzdauernde. Kulturen, die 2—5 Tage mit Heteroauxin behandelt und darauf in heteroauxinfreie Nährlösungen übergeführt worden waren, zeigten ein schlechteres Wachstum als solche, die während der ganzen Versuchszeit in Heteroauxinlösung gewachsen sind. Form und Grösse der Zellen wurden nicht beeinflusst. LEVRING (1945 a) konnte KYLINS Ergebnisse mit *Ulva* bestätigen. Auch das Wachstum einiger mariner Diatomeen, *Skeletonema* und *Melosira*, wurde durch Heteroauxin stimuliert (LEVRING 1945 b).

Als ich 1938 meine Arbeit über die Ernährungsphysiologie der Grünalgen, namentlich mit Hinsicht auf die sog. Wirkstoffe, begann, lagen noch keine Veröffentlichungen über die Wirkung von Ascorbinsäure auf auto- und mixotrophe Mikroorganismen vor. Seither ist eine Serie von Untersuchungen auf diesem Gebiet erschienen.

ONDRATSCHEK (1940 a) verwendet als Hauptversuchsorganismus *Haematococcus pluvialis*. Es zeigte sich, dass bei rein autotropher Ernährung ein kaum erwarteter Effekt von Ascorbinsäure (10—100 mg je l) sich geltend machte. Enthielt die Nährlösung überdies eine organische Kohlenstoffquelle (Natriumazetat), so gab die Ascorbinsäure dasselbe Resultat wie in einer reinen Mineralsalzlösung. Auch bei heterotropher Ernährung war die Ascorbinsäure wirksam. Am stärksten war der Zuwachs während der ersten 8—10 Tage, worauf er wieder abnahm. In einer späteren Arbeit konnte ONDRATSCHEK (1940 b) zeigen, dass ein erneuter Zusatz von Ascorbinsäure ein neuerliches Ansteigen der Vermehrung mit sich brachte. Dies galt jedoch nur bei rein autotropher Ernährung. Mit organischen Stoffen und im Dunkeln wurde bei abermaligem Ascorbinsäurezusatz nur eine unbedeutende Wirkung bemerkt. Mit anderen Worten, bei autotropher Ernährung bildete die Ascorbinsäure den ausschlaggebenden Faktor. Ausser *Haematococcus* wurde eine Anzahl anderer, besonders ausgewählter Arten der Gruppen *Eugleninae*, *Chlamydomonadae* sowie *Ulotrichales* geprüft (ONDRATSCHEK 1940 a). Hierbei bedingte die Ascorbinsäure wie früher eine starke Ertragssteigerung bei auto- und mixotropher Ernährung. Bei Heterotrophie konnte sie sich dagegen schwieriger geltend machen. Von vier untersuchten *Hormidium*-Arten (ONDRATSCHEK 1940 c) zeigten sich zwei, nämlich *H. flaccidum* und *H. nitens*, als vitamin-C-autotroph, d.h. sie konnten ihren Bedarf an Ascorbinsäure selbst synthetisieren. Das Wachstum der beiden anderen, *H. Barlowi* und *H. stoechidum*, wurde dagegen durch Ascorbinsäurezusatz stark befördert, weshalb diese als mehr oder weniger vitamin-C-heterotroph aufzufassen sind. (ONDRATSCHEK verwendet die Ausdrücke vitamin-nichtbedürftig bzw. vitaminbedürftig.) Extrakte der vitamin-autotrophen Arten hatten denselben Einfluss auf das Wachstum der vitamin-heterotrophen wie Ascorbinsäure (autotrophe Ernährung). Dagegen waren die Extrakte ohne irgendwelchen Einfluss auf die vitamin-autotrophen Arten. Extrakte von vitamin-heterotrophen Arten waren in sämtlichen Fällen ohne Wirkung. Ascorbinsäure konnte in allen *Hormidium*-Arten nachgewiesen werden. In den vitamin-autotrophen war der Gehalt etwas grösser als in den vitamin-heterotrophen.

Laut H. KYLIN (1942) stimulierte Ascorbinsäure (1—10 mg je l) die Keimung und Weiterentwicklung von Zygoten von *Ulva lactuca*. Die Ernährung war autotroph. LEVRING (1945 a) fand in Kulturen mit künstlichem Meerwasser, dass Ascorbinsäure in der Konzentration 1 mg je l keinen nennenswerten Effekt auf *Ulva* hatte. Dagegen wurde

eine marine pennate Diatomee der Gattung *Nitzschia* durch Ascorbinsäure gleicher Konzentration stark stimuliert (LEVRING 1945 b).

Aneurin ist vielleicht der Wirkstoff, dessen Wirkungen auf Mikroorganismen am besten bekannt ist. Die Mehrzahl der Untersuchungen über Aneurin sind indessen an rein heterotrophen Organismen oder an höheren Pflanzen ausgeführt. SCHLENKER (1937), SCHOPFER (1939) und JANKE (1939) haben eine Übersicht über die Literatur auf diesem Gebiete gegeben. Angaben über die Wirkung von Aneurin auf Algen sind dagegen sehr spärlich. LEONIAN und LILLY (1937) teilen mit, dass Aneurin in einer Konzentration von 0,1 mg je l keine Ertragssteigerung der von ihnen untersuchten Grünalgen hervorrufen konnte (S. 132). Laut HARVEY (1939) hatte Aneurin einen Effekt auf die Diatomee *Ditylum brightwelli* herab bis zu einer Konzentration von 0,25 mg je l. Die Anzahl Zellen je ml wurde auf etwa das Doppelte erhöht.

ONDRATSCHEK (1940 a) fand eine günstige Wirkung von Aneurin auf *Haematococcus pluvialis* in Konzentrationen von 1—10 mg je l. 100 mg waren dagegen eine zu hohe Dosis. Die Wirkung des Vitamins machte sich namentlich bei heterotropher Ernährung geltend (ONDRATSCHEK 1940 b). Selbst konnte es weder als Kohlenstoff- noch als Stickstoffquelle ausgenutzt werden. Die mit *Haematococcus* erhaltenen Resultate konnten durch Versuche mit anderen Algen bestätigt werden. In seinen Wirkungen scheint das Aneurin einen Gegensatz zur Ascorbinsäure zu bilden. Letztere zeigte den grössten Effekt bei autotropher Ernährung, die Wirkungen des Aneurins kamen dagegen bei heterotropher zur Geltung. Bei gleichzeitigem Zusatz beider Vitamine war das Wachstum in reiner Mineralsalzlösung und bei Licht nur vom Ascorbinsäuregehalt abhängig. Im Dunkel und bei Anwesenheit von organischen Stoffen bildete das Aneurin den ausschlaggebenden Faktor. Bei mixotropher Ernährung fand eine Addition der Wirkungen statt. Vitamin-B₁-autotrophe *Hormidium*-Arten wurden von Aneurin nicht stimuliert (ONDRATSCHEK 1940 c). Extrakte derselben hatten dagegen auf das Wachstum von vitamin-B₁-heterotrophen Arten (bei heterotrophen Ernährungsbedingungen) einen sehr günstigen Einfluss. In den *Hormidium*-Extrakten konnte Aneurin nachgewiesen werden.

Laut H. KYLIN (1943) stimulierte Aneurin die Keimung von *Ulva*-Zygoten, die bei autotrophen Bedingungen kultiviert worden sind. Schon eine Konzentration von 0,001 mg je l war wirksam. Das Optimum lag bei 0,01—0,1 mg. LEVRING (1945 a) fand Aneurin in Kulturen mit künstlichem Meerwasser in der Konzentration von 1 mg je l ohne Wirkung.

Trotzdem die Grünalgen seit etwa 1890 Gegenstand eingehender ernährungsphysiologischer Untersuchungen gewesen sind, muss gesagt werden, dass sie hinsichtlich der Wirkstoffe zu den am wenigsten beachteten Gruppen des Pflanzenreiches gehören. In bezug auf die Wirkung des Heteroauxins liegen sich widersprechende Angaben vor. Entweder wurde es als direkt wachstumshemmend charakterisiert, oder auch es wurden ihm typische Wirkungen auf das Streckungswachstum oder die Zellteilung zugeschrieben. In bezug auf die Ascorbinsäure lag bei Beginn dieser Arbeit keine einzige Angabe über die Wirkung dieses Vitamins auf Chlorophyceen vor. Über das Aneurin gab es nur einige unbedeutende Notizen. Die Verfasser, die seither Arbeiten über den Einfluss von Ascorbinsäure und Aneurin auf chlorophyllführende Mikroorganismen veröffentlichten, haben ihr Material hauptsächlich den Ordnungen *Euglenales*, *Volvocales*, *Ulotrichales* und *Ulvales* entnommen. In bezug auf die grosse und weit verbreitete Ordnung *Chlorococcales* gibt es dagegen keine oder nur sehr spärliche Angaben. Die vorliegende Arbeit beabsichtigt einen Beitrag zu liefern über den Einfluss von Indolylessigsäure, Ascorbinsäure und Aneurin auf Chlorophyceen, insbesondere die Ordnung *Chlorococcales*. Es zeigte sich indessen bald, dass für eine solche Untersuchung eingehende Kenntnis der ernährungsphysiologischen Ansprüche der verschiedenen Arten notwendig war. Schlussätze in dieser Hinsicht auf Grund von Literaturangaben zu ziehen, war sehr schwierig und unsicher. Eigene Untersuchungen waren daher unvermeidlich. Die Arbeit bildet daher nicht nur einen Beitrag zur Kenntnis des Einflusses gewisser Wirkstoffe auf Chlorophyceen, sondern auch einen solchen zur allgemeinen Ernährungsphysiologie der Chlorophyceen.

II. Material und Methodik.

1. Glas und Chemikalien.

Beim Studium von Algenkulturen hat sich oft gezeigt, dass die Beschaffenheit des Glases entscheidende Bedeutung hat (CZURDA 1933). Besondere Aufmerksamkeit muss der pH-Verschiebung geschenkt werden, die in Nährlösungen bei der Sterilisierung dadurch entstehen kann, dass alkalische Stoffe des Glases in Lösung gehen können. ONDRATSCHEK (1935) fand, dass schlechtere Glassorten auf diese Weise eine pH-Verschiebung von mehr als drei Einheiten verursachen können. Von zwölf untersuchten Glassorten eignete sich das Jenaglas gut für Algenkulturen. Die pH-Verschiebung war hier so gering, dass sie vernachlässigt werden konnte.

In den folgenden Versuchen habe ich in grösstmöglicher Ausdehnung Jenaglas verwendet. Messzylinder, Messkolben, Pipetten sowie einige grössere Flaschen waren jedoch von anderer Qualität. Da die Bestandteile des Glases hauptsächlich beim Erhitzen in Lösung gehen (ONDRATSCHEK 1935), wurde die Sterilisierung stets in Gefässen aus Jenaglas vorgenommen. Die Algen wurden in Reagenzrohren von 16 cm Länge und 1,5 cm Durchmesser kultiviert. Mitunter mussten auch Rohre von 18×2 cm benutzt werden. Alle Rohre der gleichen Versuchsserie sind natürlich gleicher Beschaffenheit gewesen. Das Impfmateriale wurde in Erlenmeyerkolben von 150 ml aufgezozen.

Die Glasgefässe wurden mit Bürste und sog. Scheuerpulver gereinigt und darauf mit ca. 18 %-iger Salzsäure gespült. Dann wurde sorgfältig mit fliessendem Wasserleitungswasser gewaschen, mit destilliertem Wasser gespült und dann luftgetrocknet. Diese Methode ist bequemer und ebenso effektiv wie das Reinigen mit Bichromatschwefelsäure.

Die anorganischen Salze waren vom Fabrikat Merck, pro analysi. Ursprung und Qualität der organischen Substanzen wird von Fall zu Fall besonders angegeben.

Wo nichts anderes erwähnt, ist zu den Versuchen doppelt destilliertes Wasser benutzt worden. Gewöhnliches destilliertes Wasser enthält

nämlich häufig Spuren von Kupfer. Durch NÄGELIS (1893) Untersuchung über den Einfluss der Schwermetalle auf *Spirogyra* wurde zum erstenmal klargelegt, welch erstaunlich grosse Giftwirkung dieses Metall besitzt. Diese Feststellung ist von grosser praktischer Bedeutung, da sowohl Wasserleitungswasser, das mit Metallrohren in Kontakt gewesen ist, wie auch destilliertes Wasser mehr oder weniger giftig war. Um ein indifferentes destilliertes Wasser zu erhalten, musste NÄGELI Glasapparatur verwenden. Die Beobachtungen über die Giftwirkung des Kupfers sind später wiederholt bestätigt worden (ONO 1900, RICHTER 1911, A. KYLIN 1943).

Das zu den Versuchen verwendete doppelt destillierte Wasser wurde durch Umdestillation in einem ganz aus Jenaglas mit eingeschliffenen Stöpseln bestehenden Apparat erhalten. Vor der Destillation wurde das Wasser mit einigen Tropfen Schwefelsäure und einigen Kristallen Kaliumpermanganat zwecks Zerstörung eventueller organischer Verbindungen versetzt. Das neudestillierte Wasser zeigte einen pH-Wert von 5,2—5,4. Nach Kochen zur Entfernung der Kohlensäure und schnellem Abkühlen wurde ein pH von 6,0—6,2 erhalten. Dieser Wert ist für ein gutes destilliertes Wasser charakteristisch (KOLTHOFF 1926, BRIEGER 1931).

2. Nährlösungen.

Folgende Nährlösungen sind am häufigsten zur Verwendung gelangt:

Nährlösung A:

KNO ₃	0,1	g je l Lösung
MgSO ₄ . 7H ₂ O	0,01	» » » »
CaSO ₄ . 2H ₂ O	0,01	» » » »
FeCl ₃ . 6H ₂ O	0,001	» » » »
Phosphatpuffer		

Der Phosphatpuffer bestand aus einer Mischung von KH₂PO₄ sowie Na₂HPO₄ . 2H₂O laut SÖRENSEN, beide in der Konzentration m/150. Unten werden einige der häufigsten Mischungsverhältnisse sowie das pH der Lösungen angegeben.

KH ₂ PO ₄	Na ₂ HPO ₄ . 2H ₂ O	pH
9,9	0,1	5,0
7,0	3,0	6,5
3,9	6,1	7,0

Nährlösung B. Diese Lösung hatte dieselbe Zusammensetzung wie die Nährlösung A, nur mit dem Unterschied, dass der Phosphatpuffer durch sekundäres Kaliumphosphat (K_2HPO_4) in der Konzentration 0,01 g je 1 Lösung ersetzt worden ist. Das pH ist in jedem besonderen Fall mit Hilfe von 0,1-n Salzsäure oder Natronlauge eingestellt worden.

Nährlösung C:

KNO_3	1	g	je	1	Lösung
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0,1	»	»	»	»
$CaSO_4 \cdot 2H_2O$	0,2	»	»	»	»
K_2HPO_4	0,2	»	»	»	»
$FeCl_3 \cdot 6H_2O$	0,01	»	»	»	»

Die Lösung C ist eine Modifikation einer von PRINGSHEIM (1921 b) angegebenen Nährlösung. Das Kalziumnitrat der PRINGSHEIMSchen Nährlösung ist durch Kaliumnitrat ersetzt worden. Ca ist in der Form des Sulfates zugesetzt worden. Das pH der Lösung betrug 6,9—7,0. In gewissen Fällen, wenn eine saurere Lösung erwünscht war, wurde das pH durch Zusatz von Salzsäure eingestellt. Mitunter zeigte es sich hierbei vorteilhafter, von primärem Kaliumphosphat auszugehen und das pH der Lösung durch Zusatz von NaOH einzustellen.

Jedes Reagenzrohr wurde mit 10 ml Nährlösung beschickt und mit einem Pfropfen chemisch reiner Baumwolle verschlossen. Einfachere Baumwollsorten können laut ONDRATSCHEK (1940 a) beträchtliche Mengen von Wirkstoffen enthalten.

3. Die pH-Bestimmung.

Die pH-Bestimmungen wurden mit HELLIGES pH-Messer Nr. 7040 mit Glaselektrode ausgeführt. Zu orientierenden Bestimmungen ist Mercks Universalindikator benutzt worden. Dieser Indikator ist nebst Bromthymolblau auch zur pH-Bestimmung in Agarlösungen verwendet worden.

4. Die Sterilisierung.

Die Sterilisierung von Nährlösungen u.a. ist im Autoklaven bei einem Überdruck von einer Atmosphäre ($120^\circ C$) während 20 Minuten ausgeführt worden. Verschiedene organische Substanzen vertragen in dessen keine so starke Erhitzung. Lösungen mit solchen Stoffen wurden

daher einer fraktionierten Sterilisierung im strömenden Wasserdampf (100° C) während 20 Minuten unterzogen. Die Behandlung erfolgte zweimal mit 24-stündigem Intervall. In gewissen Fällen sind die Lösungen durch Filtrieren durch ein Chamberlandfilter sterilisiert worden. Pipetten, Petrischalen usw. sind wie üblich im Trockensterilisator bei einer Temperatur von 160° C während 2 Stunden sterilisiert worden.

5. Einsammlung des Materials. Reinzüchtung.

Bei der Einsammlung von Algenmaterial zu physiologischen Versuchen besteht eine einfache Methode darin, von in der Natur vorkommenden »Wasserblüten« auszugehen, aus denen man eine oder mehrere Arten zur weiteren Reinkultur isoliert. Man kann indessen auch von natürlichem Wasser mit einem so geringen Gehalt an Mikroorganismen ausgehen, dass diese nicht ohne besondere Massnahmen beobachtet werden können (Zentrifugieren, Mikroskopieren). Wird solches Wasser mit geeigneten Nährstoffen versetzt, so ist es häufig möglich, eine Anreicherung einer oder mehrerer Arten zu erreichen. Oder auch man kann einen Tropfen solchen Wassers auf einer sterilen Agarplatte, die Mineralnährstoffe enthält, austreichen. Hierbei kommen hauptsächlich autotrophe Mikroorganismen zur Entwicklung, die dann gleichzeitig isoliert voneinander erhalten werden können. Bei meiner Einsammlung von Material sind die erwähnten Methoden nebeneinander zur Verwendung gelangt.

Zur Reinzucht der mikroskopischen Chlorophyceen sind die allgemeinen Methoden benutzt worden, die z.B. von CHODAT und GRINTZESCO (1900), KÜSTER (1921) und PRINGSHEIM (1921 b, 1926) angegeben werden. Wenn die Algen von einer »Wasserblüte« her stammen, zeigte es sich vorteilhaft, sie abzuzentrifugieren und wiederholt mit steriler Nährlösung zu waschen. Durch Aufziehen einiger Generationen der Algen in Mineralsalzlösung bei guter Belichtung war es gleichfalls möglich, Bakterien und Pilze zurückzudrängen. Die eigentliche Reinzucht erfolgte auf Agarplatten von 8 cm Durchmesser, die Nährlösung B oder C sowie Agar in der Konzentration 1,5 oder 2 %/o enthielten. Vor der Verwendung wurde das Agar 24 Stunden in fließendem Wasser gewaschen und nach Auslaugen in destilliertem Wasser abrinnen gelassen. Sowohl die Ausstreichmethode wie die Plattengussmethode sind zur Verwendung gelangt (PRINGSHEIM 1926). Es zeigte sich hierbei vorteilhaft, mit dem Plattengießen zu beginnen und später

zur Ausstreichmethode überzugehen. Im ersteren Fall wurde 1,5 0/0-iges, im letzteren 2 0/0-iges Agar benutzt. Bei Verwendung der Ausstreichmethode wuchsen die Algen schneller und das Abimpfen, das zweckmässig unter dem Präpariermikroskop erfolgt, ist leichter auszuführen. Wenn die Kulturen grössere Mengen Bakterien enthalten, verbreiten sich diese indessen leicht über die ganze Agarfläche, wodurch die Verwendbarkeit der Methode begrenzt wird. Zusätze von organischen Substanzen, wie z.B. von Glukose, und Extrakten von z.B. Hefe, Heu, Malz und Fleisch sind gleichfalls geprüft worden. Im allgemeinen begünstigen diese jedoch die Entwicklung von Bakterien und Pilzen in höherem Grad als die der Algen. Gute Ergebnisse wurden mit Erdabkochung erzielt. Während der Reinzüchtung sind die Kulturen stets unter mikroskopischer Kontrolle gestanden. Reinkulturen erhielt ich gewöhnlich erst nach mehreren Überimpfungen.

Besondere Schwierigkeiten bot eine später zu beschreibende *Ankistrodesmus*-Art. Diese Alge wurde direkt von einer Agarplatte isoliert, wo sie ein üppiges Wachstum zeigte. Bei der weiteren Reinzüchtung wurde ihr Wachstum mit abnehmender Bakterienmenge zunehmend schlechter. Ein Überimpfen von einigen anscheinend bakterienfreien Kulturen gab schliesslich keinerlei Wachstum. Die am Agar liegenden isolierten Zellen konnten unter dem Mikroskop leicht beobachtet werden. Es fanden keine Teilungen statt. Überimpfungen auf verschiedene organische Extrakte waren gleichfalls ergebnislos. Schliesslich wurde dieser Organismus mit folgender Methode reingezüchtet. Ältere mit Bakterien, Algen (*Ankistrodesmus*) sowie eventuell mit Pilzen überzogene Agarplatten wurden abermals im Autoklaven sterilisiert. Die Platten wurden mit *Ankistrodesmus* in die alten, trotz der Sterilisierung leicht erkennbaren Impfspuren geimpft. Es wurde ein ziemlich gutes Wachstum erzielt, aber die Kulturen waren nicht bakterienfrei. Durch Verwendung dieser Methode im weiteren war es indessen möglich, auch diese Alge reinzuzüchten. Später stellte sich heraus, dass die Alge auch in reinen Mineralsalzlösungen ziemlich gutes Wachstum zeigte, wenn nur die Impfmenge genügend gross war. Die Entwicklung isolierter Zellen wurde unter dem Mikroskop (im hängenden Tropfen) verfolgt. Im allgemeinen fanden keine Zellteilungen statt. Ausnahmsweise wurde eine Autosporenbildung 1—2 Mal in Erdabkochung beobachtet, aber die Zellen nahmen nur langsam an Grösse zu und gingen schliesslich zugrunde. Die wahrscheinliche Ursache dieses eigentümlichen Verhaltens der Alge wird später besprochen werden.

Wenn von den verschiedenen Arten einigermaßen reine Kulturen erhalten worden waren, wurden die weiteren Überimpfungen stets nur von einer Kolonie vorgenommen. Von einer solchen kann nämlich angenommen werden, dass sie von einem einzigen Individuum her stammt, wenn die Verteilung gut gewesen ist. Dann repräsentiert diese eine Klonenkultur, ein genetisch einheitliches Material. Volle Sicherheit wird natürlich nur erreicht, wenn Plattenguss und Impfung hinlänglich oft wiederholt werden. Zu diesem Zweck wurden solche Abimpfungen für jede Art wenigstens dreimal nacheinander vorgenommen.

Nach dem Erhalten absoluter Reinkulturen wurden diese durch Überimpfen in Nährlösungen, die für die Entwicklung von Pilzen und Bakterien günstig waren, auf ihre Reinheit geprüft. Solche Nährlösungen sind: 1) Fleischextrakt-Peptonlösung, 2) Fleischextrakt-Peptonagar, 3) Fleischextrakt-Pepton-Glukoselösung, 4) Malzextraktagar. Die Entwicklung der Kulturen, die teils im Licht bei Zimmertemperatur, teils im Dunkeln im Thermostaten (bei 25° C) standen, wurde während einer Zeit von 14 Tagen verfolgt, wobei die Lösungen mikroskopischer Kontrolle im hängenden Tropfen und in Ausstrichpräparaten (Färbung mit Gentianaviolett) unterzogen wurden. Sind nach dieser Zeit keine fremden Mikroorganismen aufgetreten, so wurden die Kulturen als frei von solchen betrachtet. Schliesslich wurden die Algen auf Schrägagar in Reagenzrohren überimpft. Diese Kulturen, die als Stammkulturen dienten, wurden ausser mit den gebräuchlichen anorganischen Salzen (Nährlösung B) auch mit einer organischen Substanz versetzt. Hierdurch war es möglich, eine eventuelle Infektion leicht zu entdecken. Gewöhnlich wurde Fleischextrakt 0,5 % + Pepton 0,5 % oder Malzextrakt 0,8 % zugesetzt. Das pH der Lösungen wurde auf 7,0 eingestellt.

Eine Prüfung auf Freiheit von Bakterien mit speziellen Ansprüchen an das Nährsubstrat wurde im allgemeinen nicht vorgenommen und kann auch nicht als erforderlich betrachtet werden. Kommen solche Mikroorganismen in den ursprünglichen Rohkulturen vor, so bleiben sie zufolge Fehlens eines für sie geeigneten Milieus gewöhnlich bald in der Entwicklung zurück. Bei den zahlreichen Überimpfungen während der Reinzüchtung wird man sie daher bald los. So konnten in einer Rohkultur Nitrifikationsbakterien nachgewiesen werden. Die rein gezüchtete Kultur war von diesen ganz frei. Zur Sicherheit wurden jedoch sämtliche Reinkulturen auf Nitrifikationsbakterien geprüft (Nährlösung laut KOSTKA 1924). Solche konnten in keinem einzigen Fall nachgewiesen werden.

6. Versuchsorganismen.

Mit den beschriebenen Methoden sind die unten genannten Chlorophyceen reingezüchtet worden. Die Arten sind auf Grund morphologischer Merkmale bestimmt. Ein Versuch, die *Scenedesmus*-Arten mit den von CHODAT (1926) aufgestellten physiologischen Rassen zu identifizieren, hat aufgegeben werden müssen. Beim Bestimmen der Arten sind die Arbeiten von PASCHER (1914, 1915) sowie SMITH (1916, 1920) zur Verwendung gelangt. Die Einteilung in Familien gründet sich auf SMITHS System (1933).

Ordnung *Chlorococcales*.

Familie *Oocystaceae*.

Chlorella sp. Zellen kugelförmig, 3—5 μ Durchmesser. Membran dünn. Chromatophor glockenförmig, gewöhnlich nur etwa die halbe Zellwand bedeckend. Pyrenoid mehr oder weniger deutlich. Vermehrung durch Auto-sporen. — Die Art erinnert zunächst an *Chlorella vulgaris* BEIJERINCK, unterscheidet sich aber von dieser durch den schwach ausgebildeten Chromatophor.

Die Alge wurde mir von Professor H. KYLIN, Lund,¹ zur Verfügung gestellt, der sie im Sommer 1935 auf der Klippeninsel Bonden (schwedische Westküste) angetroffen hatte, wo sie in einer Felsenkluft eine Wasserblüte bildete. Professor KYLIN hielt sie bis 1938 in Rohkultur, da sie von mir reingezüchtet wurde. Im weiteren wird diese Alge als *Chlorella* sp. A bezeichnet.

Chlorella vulgaris BEIJERINCK. Zellengröße in Kultur 3—7 μ . — Fundort: Im Stadtparkteich zu Lund (Südschweden), wo sie nebst einigen anderen Arten im Herbst 1938 eine Wasserblüte bildete. Rohkultur 1938—42. Reinzüchtung 1942. Die Alge wird im weiteren *Chlorella vulgaris* B genannt.

Chlorella vulgaris BEIJERINCK. Morphologisch mit der vorigen Art übereinstimmend. Die Reinkultur wurde mir zur Verfügung gestellt von Professor V. DENK,² Pflanzenphysiol. Inst. der Deutschen Karls-Universität, Prag, Tschechoslowakei. Klonenkultur ? Bezeichnung: *Chlorella vulgaris* M.

Ankistrodesmus falcatus (CORDA) RALFS. Fundort: Im Agardh-Teich im Botanischen Garten zu Lund (Südschweden). Wurde von einer Agarplatte isoliert und 1942 reingezüchtet.

Familie *Scenedesmaceae*.

Scenedesmus obliquus (TURP.) KTZ. In Kultur blieb die Cönobienbildung aus und die Alge ging in ein einzelliges Stadium über. Die Form kann hierbei von oval bis zu mehr oder weniger spindelförmig wechseln (vgl. GRINTZESCO 1902, CHODAT 1926). Selten kommen einzelne Cönobien vor. Die Alge wurde in einem Holzkübel mit stillstehendem Wasser in der Gegend von Lund (Südschweden) im Jahr 1938 angetroffen. Reinzüchtung 1939.

¹ Herrn Professor H. KYLIN spreche ich hierfür meinen besten Dank aus.

² Herrn Professor V. DENK spreche ich hierfür meinen besten Dank aus.

Scenedesmus dimorphus (TURP.) KTZ. In Kultur blieb die Cönobienbildung aus. Einzelne 2—4-zellige Cönobien kommen jedoch regelmässig vor. Die Alge stammt aus der gleichen Rohkultur wie *Chlorella vulgaris* B. Reinzüchtung 1942.

Scenedesmus acuminatus (LAG.) CHODAT. Ist in Kultur cönobienbildend, aber die Cönobien zerfallen leicht. Zellenlänge 17—25 μ , Zellenbreite 3—5 μ . Die Alge wurde aus der gleichen Rohkultur isoliert wie *Chlorella vulgaris* B. Reinzüchtung 1942.

Scenedesmus acutiformis SCHRÖDER. In Kultur sind die Zellen entweder cönobienbildend oder frei. Im letzteren Fall sind sie spindel- oder eiförmig, ev. mit 1—2 Dornen. Fundort: Im Laboratorium-Teich des Botanischen Gartens zu Lund (Südschweden). Die Alge wurde von einer Agarplatte isoliert und 1942 reingezüchtet.

Scenedesmus quadricauda (TURP.) DE BRÉB. In Kultur cönobienbildend. Die Alge wurde aus derselben Rohkultur isoliert wie *Chlorella vulgaris* B.

Ordnung *Ulotrichales*.

Familie *Ulotrichaceae*.

Stichococcus bacillaris NÄGELI sens. ampl. In Kultur einzellig oder sehr kurze, leicht zerfallende Ketten bildend. Die Alge wurde aus derselben Rohkultur isoliert wie *Chlorella vulgaris* B.

7. Das Impfen.

Die reingezüchteten Algen der Stammkulturen sind nicht direkt zu den physiologischen Versuchen benutzt worden. Bei Kultur auf Agar werden die Algen nämlich oft deformiert, sie nehmen ein abnormes Aussehen an. Ausserdem enthielt das Kultursubstrat organische Substanzen wie Pepton und Malzextrakt, die ihrerseits Wirkstoffe enthalten (ONDRATSCHEK 1940 a, d). Auch das Agar als solches kann Wirkstoffe enthalten (SCHOPFER und BLUMER 1938). Das Impfmateriale wurde daher in reinen Mineralsalzlösungen aufgezogen. Erlenmeyerkolben von 150 ml wurden mit 30—40 ml Nährlösung B, pH=7,0, beschickt und mit den betreffenden Algen geimpft. Nach einer Woche, wo sich die Kulturen in kräftiger Entwicklung befanden, wurde in eine neue Mineralsalzlösung überimpft. Erst nach einer grösseren Anzahl (wenigstens fünf) solcher Überimpfungen wurde das Material als zu physiologischen Versuchen verwendbar erachtet. Die anorganischen Kulturen wurden regelmässig mittels Mikroskopieren und Impfung auf organisches Substrat auf Bakterienfreiheit kontrolliert.

Diese Methode hat auch den Vorteil, dass man mit einem in physiologischer Hinsicht einheitlichen Material arbeitet. Laut HARVEY

(1939) wurden mit *Ditylum brightwelli* verschiedene Resultate erhalten, je nachdem unter welchen Bedingungen die Alge aufgezogen worden ist. Laut ONDRATSCHEK (1940 a) sollen sich die Zellen im »Normalzustand« befinden, worunter »Zellgemische von grösster Einheitlichkeit bei intensivster Vermehrung« zu verstehen sind.

Die laut vorstehend genannter Methode aufgezogenen Kulturen wurden zum Impfen der Reagenzrohre in den Versuchsserien verwendet. Die Bedeutung der Impfmenge soll in einem anderen Zusammenhang berührt werden. Hier soll nur die Impftechnik selbst beschrieben werden. Um in den verschiedenen Reagenzrohren einer Versuchsserie eine so gleichmässige Impfung wie möglich zu erhalten, wird so verfahren, dass man mit einer sterilen Pipette der gut umgeschüttelten Mutterkultur einige ml entnimmt und darauf den Reagenzrohren je einen Tropfen der Algensuspension zuführt. Beim Impfen einer grossen Anzahl von Rohren hat diese Methode jedoch gewisse Nachteile. Es besteht die Gefahr einer Infektion sowohl der Pipette wie der Mutterkultur. Ein Austauschen der Pipette ist auch unzweckmässig, da dies auf die Grösse der Impftropfen einen Einfluss haben kann. Es wurde daher ein besonderes Impfrohr konstruiert, mit dem die erwähnten Nachteile eliminiert worden sind.

Abbildung 1 zeigt das Aussehen des Impfrohrs. A ist ein Chlorkalziumrohr von etwa 20 cm Länge. Es ist oben mit einem Baumwollstopfen versehen (B), unten ist es mittels eines kurzen Kautschukschlauches (C) mit der Auslaufspitze (D) verbunden. Der Schlauch enthält eine Glasperle passender Grösse (E). Die Auslaufspitze wird, wie die Figur zeigt, durch ein Ansatzrohr (F) vor Infektion geschützt. Das Ansatzrohr ist unten durch einen kräftigen Baumwollstopfen verschlossen (G). Das Impfrohr wird im Autoklaven sterilisiert. Die Mut-

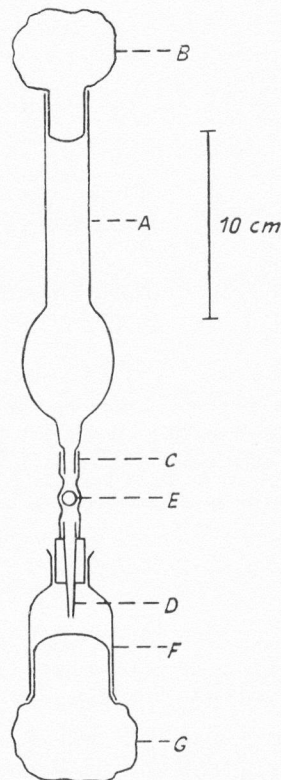


Abb. 1. Impfrohr. A=Chlorkalziumrohr, B=Baumwollstopfen, C = Kautschukligatur, D = Auslaufspitze, E = Glasperle, F = Ansatzrohr, G = Baumwollstopfen. Die Verwendungsweise des Impfrohrs wird im Text beschrieben.

terkultur wird unter Beobachtung der bei sterilem Arbeiten üblichen Massnahmen in das Impfrohr gegossen, das Rohr stark umgeschüttelt und im Stativ aufgehängt. Infolge der Länge des Chlorkalziumrohres vermeidet man beim Schütteln eine Befeuchtung des oberen Baumwollstopfens. Schliesslich werden die Baumwollstopfen des Ansatzrohres und des zu impfenden Reagenzrohres entfernt, worauf das letztere, nach vorheriger Flammensterilisierung der Mündung, eingeführt wird. Durch einen leichten Druck auf den Kautschukschlauch an der Glasperle wird dem Reagenzrohr ein Tropfen Algensuspension zugeführt.

Es ist zweckmässig, vor der Impfung einige ml Suspension abzulassen, da die Auslaufspitze von der Sterilisierung gewöhnlich einige Tropfen Kondenswasser enthält. Die Impfung der Reagenzrohre kann in schnellem Takt erfolgen; jedes Rohr braucht nur 10—15 Sekunden in Anspruch zu nehmen. Mit dieser Methode war es möglich, ein paar Hundert Kulturen binnen sehr kurzer Zeit ohne Infektion zu impfen.

Die hier untersuchten Algen haben so kleine Dimensionen, dass sich eine Sedimentierung gewöhnlich nicht geltend machen konnte. Sollten die Organismen eine Tendenz zu Sedimentierung zeigen, so kann die Impfung in einem geeigneten Zeitpunkt unterbrochen und das Impfrohr umgeschüttelt werden. Hierbei muss jedoch die Mündung des Ansatzrohres mit einem sterilen Baumwollstopfen verschlossen werden.

8. Licht, Temperatur u.a.

Die geimpften Kulturen wurden in einem Fenster gegen Osten aufgehängt und vor direktem Sonnenlicht durch über die Scheiben gespanntes, halbdurchsichtiges Papier geschützt. Während der dunklen Jahreszeit musste künstliche Belichtung eingesetzt werden. Hierbei wurden die Reagenzrohre in einem hierzu konstruierten Gestell kreisförmig um zwei übereinander angebrachte Lampen von 150 Dekalumen angebracht, deren Lichtpunkte gegeneinander gerichtet waren. Der Abstand von den Kulturen zur gemeinsamen Mittelachse der Lampen betrug 25 cm. Der Durchmesser der Lampen selbst war 6 cm. Zufolge der Wahl von Lampen mit so geringem Durchmesser, aber doch verhältnismässig hoher Lichtstärke, wurden besondere Kühlanordnungen überflüssig. Um eine Übereinstimmung mit der Tagesvariation bei Verwendung von natürlichem Licht zu erhalten, ist auch während den Wintermonaten eine diskontinuierliche Beleuchtung zur Verwendung gelangt. Die Kulturen sind im allgemeinen täglich 12—14 Stunden ununterbrochen

beleuchtet worden. Es ist nämlich nicht gleichgültig, ob eine bestimmte Lichtmenge ohne Unterbrechung oder in bestimmten Intervallen zugeführt wird. IGGENA (1938) fand für Chlorophyceen ein Minimum der Vermehrungsintensität bei Intervallen von einer Minute. Bei Abkürzung oder Verlängerung der Licht-Dunkelperioden nahm die Vermehrungsintensität zu und erreichte bei Intervallen von 5 Sekunden bzw. von 12 Stunden ihr Maximum.

Die Temperatur war Zimmertemperatur und lag im allgemeinen um etwa 20° C. Kleinere Schwankungen infolge von Jahreszeit, Witterung usw. haben natürlich nicht vermieden werden können. Da also Licht und Temperatur in den verschiedenen Versuchen nicht ganz gleich gewesen sind, sind die im folgenden wiedergegebenen Tabellen nicht direkt miteinander vergleichbar, wenn dies nicht besonders angegeben worden ist.

Die Verdunstung von den Kulturen war verhältnismässig unbedeutend und Korrekturen wurden als nicht erforderlich erachtet.

9. Quantitative Bestimmung des Wachstums.

Jeder Versuch umfasste zwei gleichartige parallele Serien, die den gleichen äusseren Bedingungen ausgesetzt worden sind. Am Ende der Versuchszeit wurde der Ertrag durch Bestimmung der Anzahl Zellen je mm³ mit Hilfe der BÜRKERSCHEN Zählkammer festgestellt. Die Methode hat den Nachteil, sehr zeitraubend zu sein. Da es meistens nicht möglich gewesen ist, die Proben eines Versuches im Laufe eines oder sogar mehrerer Tage abzurechnen, mussten die Kulturen fixiert werden. Es zeigte sich indessen, dass die in Frage kommenden Fixiermittel mehr oder weniger grosse pH-Verschiebungen verursachten, wodurch die pH-Bestimmungen bei Abschluss der Versuche unmöglich gemacht wurden. Eine pH-Bestimmung vor Zusatz des Fixiermittels hatte einen nachteiligen Einfluss auf die folgende Auszählung, da die ganze Kultur von 10 ml für die pH-Bestimmung in Anspruch genommen werden musste. Da es gleichwohl notwendig war, von den Bestimmungen des End-pH der Lösungen Abstand zu nehmen (abgesehen von speziellen Fällen), wurde als »Fixiermittel« konzentrierte Salzsäure verwendet. Am Ende der Versuchszeit wurde jede Kultur mit ein paar Tropfen versetzt. Dieses »Fixiermittel« hat nämlich den Vorteil, zu einer gleichmässigen Verteilung der Algen bei der darauf folgenden Auszählung in der BÜRKER-Kammer beizutragen. Ab und zu kann es nämlich vorkommen, dass die Algen eine Tendenz zeigen, sich in lok-

keren Verbänden zusammenzuhalten. Nach Zusatz von Salzsäure treten die einzelnen Individuen ganz voneinander isoliert auf.

Beim Auszählen einer gleichförmigen Suspension von Zellen in der Zählkammer ist laut ESSEN-MÖLLER (1941) der durch die Methode bedingte mittlere Fehler gleich der Quadratwurzel der Anzahl gezählter Zellen. Anfangs nimmt dieser Fehler also schnell ab, später zunehmend langsamer. Bei 300 gezählten Zellen beträgt der mittlere Fehler 5,8 % des Mittelwertes. Das Zählen weiterer 100 Zellen senkt die Zahl auf 5,0 %, aber für das nächste Hundert sinkt sie nur auf 4,5 %. Und bei einer so hohen Zahl wie 2 000 beträgt der mittlere Fehler noch immer 2,2 %. Wie ersichtlich ist ein Abzählen von mehr als 400 Zellen je Probe kaum der Mühe wert. Im allgemeinen sind etwa 300 Zellen gezählt worden. Es sind jedoch sowohl höhere wie niedrigere Werte vorgekommen. Jeder Kultur sind nach starkem Umschütteln zwei Tropfen entnommen und ausgezählt worden. Die Übereinstimmung zwischen den erhaltenen Werten ist im allgemeinen sehr gut gewesen, was zeigt, dass die Algensuspensionen hochgradig homogen gewesen sind. Als Beispiel seien hier einige aufs Geratewohl den Bestimmungen entnommene Werte angeführt: 420 und 417; 308 und 317; 239 und 259; 99 und 110; 242 und 251; 174 und 195; 180 und 184; 156 und 200; 192 und 192; 479 und 485.

Um einen Ausdruck für die biologische Variation zu bekommen, sind die Werte der beiden parallelen Serien angeführt worden. Leider ist es aus praktischen Gründen nicht möglich gewesen, die Anzahl paralleler Kulturen über zwei zu erhöhen. Die Zahlen wurden auf 10, 100 oder 1 000 abgerundet. War der Ertrag sehr unbedeutend, so wurde keine Zählung ausgeführt. In den Tabellen ist ein solches unbedeutendes Wachstum durch ein \pm angegeben. Die Übereinstimmung zwischen parallelen Proben ist im allgemeinen ziemlich gut gewesen. Ab und zu kommen indessen grosse Abweichungen vor, ohne dass dies in jedem einzelnen Fall besonders hervorgehoben worden ist. Es muss damit gerechnet werden, dass derartige Abweichungen auf geringere Unterschiede in den Versuchsbedingungen zurückzuführen sind, z.B. in der Beleuchtung oder in der Beschaffenheit des Baumwollstopfens, in welchem letzterem Fall Unterschiede im Gasaustausch auftreten können. Bei *Chlorella sp. A* sowie *Ankistrodesmus falcatus* treten indessen solche Abweichungen so häufig auf, dass man sie als gerade für diese Arten charakteristisch betrachten kann. Vielleicht hängt diese Erscheinung damit zusammen, dass das Wachstum dieser Arten von der Grösse der Impfmenge abhängig zu sein scheint. Derartige Unregelmässigkeiten erschweren natürlich die Beurteilung der Versuchsergebnisse.

III. Anorganische Nährstoffe. Reaktion der Lösung.

1. Anorganische Stickstoffquelle.

Nicht wenige Arbeiten sind über das Vermögen der Chlorophyceen, sich anorganische Stickstoffverbindungen zugute zu machen, veröffentlicht worden. Eine Zusammenstellung der erhaltenen Resultate gibt jedoch ein so buntes Bild, dass ich es für notwendig erachtet habe, mir durch eigene Versuche eine Auffassung zu verschaffen vom Vermögen der Algen, Nitrate und Ammoniumverbindungen zu assimilieren. Als Repräsentant für Nitrate wurde Kaliumnitrat gewählt. Ammonium wurde in der Form von Ammoniumchlorid geprüft. Ausserdem wurde auch Ammoniumnitrat geprüft.

Versuch 1. Kaliumnitrat als Stickstoffquelle. Es wurde eine Grundlösung folgender Zusammensetzung verwendet: $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,01 g, $CaSO_4 \cdot 2H_2O$ 0,01 g, K_2HPO_4 0,01 g, $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ 0,001 g je 1 Lösung. Diese wurde mit Kaliumnitrat in steigender Konzentration versetzt, nämlich: 1) 0,01 g, 2) 0,10 g, 3) 1,00 g und 4) 10,00 g je 1 Lösung. Das pH wurde auf 7,0 eingestellt. Die Lösung wurde mit den in Tabelle 1 angegebenen Algen geimpft, die in oben genannter Grundlösung, 0,10 g Kaliumnitrat je 1 enthaltend, aufgezogen worden sind. Die mit dem Impftropfen zugeführte Stickstoffmenge ist gleichwie in den folgenden Versuchen vernachlässigt worden. Versuchszeit 17 Tage. Tabelle 1 und 2.

Tabelle 1. Kaliumnitrat als Stickstoffquelle (Versuch 1). Anzahl Zellen je mm^3 .

KNO_3 g je l	0,01	0,1	1	10
<i>Chlorella vulgaris</i> B	11 000 13 000	17 000 17 000	18 000 17 000	6 800 4 300
<i>Ankistrodesmus falcatus</i>	180 280	100 140	170 130	± ±
<i>Scenedesmus obliquus</i>	5 000 4 700	4 900 5 100	5 400 6 000	2 200 1 800
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	1 900 2 300	1 500 1 900	1 700 1 500	320 130
<i>Stichococcus bacillaris</i>	9 900 9 800	9 400 12 000	11 000 11 000	5 600 4 500

Tabelle 2. Kaliumnitrat als Stickstoffquelle (Versuch 1). Die pH-Werte am Ende des Versuches. Anfangs-pH=7,0.

KNO ₃ g je l	0,01	0,1	1	10
<i>Chlorella vulgaris</i> B	7,3 7,3	7,3 7,3	7,3 7,4	7,2 7,1
<i>Ankistrodesmus falcatus</i>	7,1 7,0	7,0 7,0	7,0 7,0	7,0 7,0
<i>Scenedesmus obliquus</i>	7,5 7,5	7,7 7,5	7,9 7,7	7,4 8,0
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	7,1 7,1	7,1 7,0	7,2 7,3	7,0 7,0
<i>Stichococcus bacillaris</i>	7,4 7,4	7,4 7,3	7,4 7,4	7,1 7,1

Tabelle 3. Ammoniumchlorid als Stickstoffquelle (Versuch 2). Anzahl Zellen je mm³.

H ₄ NCl g je l	0,01	0,1	1	10
<i>Chlorella vulgaris</i> B	11 000 13 000	10 000 11 000	9 100 9 700	300 200
<i>Ankistrodesmus falcatus</i>	530 350	700 370	100 150	± ±
<i>Scenedesmus obliquus</i>	4 400 4 900	3 500 2 800	1 500 1 600	± ±
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	2 400 1 900	1 900 1 900	1 100 1 100	± ±
<i>Stichococcus bacillaris</i>	14 000 13 000	1 900 3 000	2 200 2 100	± ±

Tabelle 4. Ammoniumchlorid als Stickstoffquelle (Versuch 2). Die pH-Werte am Ende des Versuches. Anfangs-pH=7,0.

H ₄ NCl g je l	0,01	0,1	1	10
<i>Chlorella vulgaris</i> B	6,0 6,0	6,0 5,8	4,8 5,4	5,4 5,7
<i>Ankistrodesmus falcatus</i>	6,5 6,5	6,2 6,6	6,6 6,6	6,9 6,9
<i>Scenedesmus obliquus</i>	5,9 6,6	5,9 5,8	5,8 5,6	6,9 6,9
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	6,9 6,6	6,5 6,1	6,8 6,6	6,8 6,9
<i>Stichococcus bacillaris</i>	6,0 6,0	6,2 6,4	6,0 —	6,7 6,7

Sämtliche untersuchten Arten haben Nitrat ausnutzen können (Tab. 1). 10 g je l ist eine zu hohe Konzentration. *Chlorella vulgaris* B scheint 0,1—1 g je l vorzuziehen. Die übrigen Arten zeigen dagegen keine nennenswerten Unterschiede in den drei niedrigsten Konzentrationen. Das Wachstum von *Ankistrodesmus* ist jedoch, wie so häufig mit dieser Alge, unregelmässig gewesen.

Am Ende der Versuchszeit wurde das pH der Lösungen bestimmt (Tab. 2). Die Verschiebung in alkalischer Richtung beträgt im allgemeinen 0,3—0,5 Einheiten. Eine Ausnahme bildet *Scenedesmus obliquus* mit einer etwas grösseren pH-Erhöhung.

Versuch 2. Ammoniumchlorid als Stickstoffquelle. Die zu Versuch 1 benutzte Grundlösung wurde mit Ammoniumchlorid in steigender Konzentration versetzt, nämlich: 1) 0,01 g, 2) 0,10 g, 3) 1,00 g und 4) 10,00 g je l Lösung. Das pH wurde auf 7,0 eingestellt. Die Lösungen wurden mit den in der Tabelle 3 angegebenen Algen geimpft, die in der Grundlösung mit 0,10 g Ammoniumchlorid je l aufgezogen worden sind. Versuchszeit 17 Tage. Tabelle 3 und 4.

Sämtliche Algen haben den Stickstoff des Ammoniumchlorids ausnutzen können (Tab. 3). Das Wachstum war am kräftigsten in den beiden niedrigsten Konzentrationen und nahm darauf ab. *Stichococcus* zieht entschieden die niedrigste Konzentration vor. 10 g Ammoniumchlorid je l geben in sämtlichen Fällen einen unbedeutenden Ertrag.

Wie aus Tabelle 4 hervorgeht, hat eine beträchtliche pH-Verschiebung in saurer Richtung stattgefunden. Am kleinsten ist sie in den Lösungen mit grösstem Stickstoffgehalt, wo ja auch das Wachstum am schlechtesten gewesen ist. Im übrigen erscheint es nicht möglich, einen Zusammenhang zwischen pH-Verschiebung und Ertrag festzustellen.

Versuch 3. Ammoniumnitrat als Stickstoffquelle. Gleiche Grundlösung wie im Versuch 1. Ammoniumnitrat in folgenden Konzentrationen: 1) 0,01 g, 2) 0,10 g, 3) 1,00 g und 4) 10,00 g je l Lösung. pH=7,0. Die Versuchsorganismen wurden in der Grundnährlösung mit 0,10 g Ammoniumnitrat je l aufgezogen. Versuchszeit 17 Tage. Tabelle 5 und 6.

Das Wachstum nimmt gleichwie für Ammoniumchlorid mit steigender Konzentration ab (Tab. 5). 10 g Ammoniumnitrat je l Lösung geben einen höchst unbedeutenden Ertrag. Auch in bezug auf die pH-Verschiebung verhält sich Ammoniumnitrat wie ein Ammoniumsalz, d.h. die Veränderung geht in saurer Richtung (Tab. 6).

Da die Versuche 1—3 bei identischen Licht- und Temperaturbedingungen ausgeführt worden sind, sind die in den Tabellen mitge-

Tabelle 5. Ammoniumnitrat als Stickstoffquelle (Versuch 3). Anzahl Zellen je mm³.

H ₄ NNO ₃ g je l	0,01	0,1	1	10
<i>Chlorella vulgaris</i> B	17 000	11 000	8 200	550
	17 000	10 000	7 900	410
<i>Ankistrodesmus falcatus</i>	310	320	450	±
	550	—	200	±
<i>Scenedesmus obliquus</i>	4 800	3 900	2 600	530
	4 100	4 400	2 700	530
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	2 600	2 400	1 300	±
	2 900	2 300	1 400	±
<i>Stichococcus bacillaris</i>	11 000	4 600	2 400	±
	7 300	3 600	2 800	±

Tabelle 6. Ammoniumnitrat als Stickstoffquelle (Versuch 3). Die pH-Werte am Ende des Versuches. Anfangs-pH = 7,0.

H ₄ NNO ₃ g je l	0,01	0,1	1	10
<i>Chlorella vulgaris</i> B	6,0	5,8	5,5	6,6
	6,7	6,1	5,9	6,6
<i>Ankistrodesmus falcatus</i>	6,5	5,9	6,1	6,9
	6,5	—	6,3	6,9
<i>Scenedesmus obliquus</i>	6,5	5,9	6,3	6,5
	6,2	5,5	5,5	6,5
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	6,4	6,4	5,9	6,9
	6,5	6,6	6,5	6,9
<i>Stichococcus bacillaris</i>	6,9	6,7	—	6,8
	6,8	6,4	—	6,8

Tabelle 7. Vergleich zwischen verschiedenen N-Quellen in günstigster Konzentration (Versuche 1—3). Anzahl Zellen je mm³; Mittelwerte.

Stickstoffquelle		KNO ₃	H ₄ NCl	H ₄ NNO ₃
<i>Chlorella vulgaris</i> B	N-Quelle g/l	1	0,01	0,01
	Zellen/mm ³	18 000	12 000	17 000
<i>Ankistrodesmus falcatus</i>	N-Quelle g/l	0,01	0,1	0,01
	Zellen/mm ³	230	540	430
<i>Scenedesmus obliquus</i>	N-Quelle g/l	1	0,01	0,01
	Zellen/mm ³	5 700	4 700	4 500
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	N-Quelle g/l	0,01	0,01	0,01
	Zellen/mm ³	2 100	2 200	2 800
<i>Stichococcus bacillaris</i>	N-Quelle g/l	1	0,01	0,01
	Zellen/mm ³	11 000	13 000	9 000

teilten Werte direkt miteinander vergleichbar. Der Ernteertrag bei der günstigsten Konzentration der verschiedenen Stickstoffquellen ergibt sich aus Tabelle 7 (Mittelwerte).

Die Tabelle zeigt, dass Kaliumnitrat, Ammoniumchlorid und Ammoniumnitrat einigermaßen gleichwertige Stickstoffquellen sind. *Ankistrodesmus* scheint jedoch Ammoniumstickstoff vorzuziehen. Die übrigen Unterschiede sind gering und es können ihnen keine grössere Bedeutung zugemessen werden. Die günstigste Konzentration beträgt für die Ammoniumsalze 0,01—0,1, für Kaliumnitrat 0,01—1 g je l.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass sowohl Nitrat wie Ammoniumsalze als Stickstoffquelle ausgenutzt werden können. Das Nitrat wird hierbei in höherer Konzentration vertragen als die Ammoniumsalze. Da das Nitrat ein physiologisch basisches Salz ist, wird die Reaktion des Mediums in alkalischer Richtung verändert. Die pH-Erhöhung ist jedoch nicht auffallend gross, was darauf beruht, dass die Algen durch die bei der Atmung gebildete Kohlensäure einen Teil der freigemachten Base neutralisieren. Es muss indessen damit gerechnet werden, dass die Veränderung der Reaktion der Lösung sekundäre Wirkungen auf das Wachstum hat. In Versuch 7 soll gezeigt werden, dass der Ernteertrag mit steigendem pH zunimmt. Die pH-Verschiebung hat demnach an und für sich eine günstige Wirkung. Andererseits ist die Aufnahme von Nitrat in einer alkalischen Lösung verglichen mit einer sauren herabgesetzt (URHAN 1932).

In bezug auf die Ammoniumsalze besteht ein gerade entgegengesetztes Verhältnis. Sie sind physiologisch sauer, und da die freigemachte Säure nicht neutralisiert wird, kommt es zu einer erheblichen pH-Senkung. Schon aus diesem Grunde wird das Wachstum herabgesetzt (Versuch 7). Ausserdem ist die Aufnahme von Ammoniumsalzen von der Reaktion der Lösung abhängig. Laut URHAN (1932) nehmen *Chlorella* und *Scenedesmus* bei pH=7,3 erheblich grössere Mengen Ammoniakstickstoff auf als bei pH=6,0.

Es ist wahrscheinlich, dass Versuche mit einer vollständig gepufferten Nährlösung ein etwas anderes Resultat ergeben haben würden als das hier erhaltene. Da die pH-Senkung in Versuch 2 und 3 das Wachstum hemmt und die Ammoniumaufnahme laut URHAN (1932) in einer neutralen Lösung grösser ist als in einer sauren, kann man erwarten,

dass die Ammoniumsalze bei konstantem pH dem Kaliumnitrat etwas überlegen gewesen sein würden. Pufferlösungen mit grosser Kapazität und damit hoher Konzentration wirken indessen leicht hemmend auf das Wachstum. Handelt es sich daher um die Wahl einer Stickstoffquelle für eine nicht oder nur schwach gepufferte Nährlösung, so ist Kaliumnitrat dem Ammoniumchlorid vorzuziehen, da die Veränderung der Reaktion der Lösung hierdurch viel geringer wird. Bei Verwendung eines Phosphatpuffers mit einer Konzentration von m/150 und bei einem in der Nähe von 6,8 gelegenen pH, wo dieser Puffer seine maximale Kapazität hat, erfolgt, wie später gezeigt werden soll, keine oder nur eine unbedeutende Veränderung des pH-Wertes. In der Mehrzahl der folgenden Versuche ist Kaliumnitrat in einer Konzentration von 0.1 g je l als Stickstoffquelle benutzt worden.

Wird den Algen Stickstoff in der Form sowohl von Nitrat wie Ammonium dargeboten, so wird in erster Linie letzteres aufgenommen, was aus den Veränderungen der Reaktion der Lösung hervorgeht. Diese sind ungefähr gleich gross wie bei der Verwendung von Ammoniumchlorid. Ammoniumnitrat verhält sich mit anderen Worten in erster Linie wie ein Ammoniumsalz. Ein extra Zusatz von Stickstoff in der Form von Nitrat ist ohne Effekt.

BEIJERINCK (1890), der erste der Algen in absoluter Reinkultur vermehrte, verwendete als Stickstoffquelle hauptsächlich Pepton. Für *Scenedesmus acutus* waren sowohl Nitrat wie Ammoniumsalze untauglich. *Chlorella vulgaris* konnte den Stickstoff in diesen ausnutzen (BEIJERINCK 1893), aber auch diese zog Pepton vor. KRÜGER (1894) fand, dass Ammonium eine gute Stickstoffquelle für *Chlorella protothecoides* bildet, während Kaliumnitrat nicht ausgenutzt werden konnte. MOLISCH (1895, 1896) und BENECKE (1898) verwendeten zu ihren klassischen Untersuchungen über den Mineralstoffbedarf der Algen entweder Ammoniumsalze oder Nitrat. Sie arbeiteten jedoch nicht mit absoluten Reinkulturen.

Für eine Gonidie, *Chlorococcum infusionum*, zeigten sich die Ammoniumsalze dem Nitrat überlegen (ARTARI 1899, 1904), während ein freilebendes *Chlorococcum infusionum* das Nitrat vorzog (ARTARI 1902). Bei Anwesenheit von Glukose war Ammoniumnitrat eine bessere N-Quelle als Kaliumnitrat (*Chlorella communis*), bei autotropher Ernährung waren diese beiden Stoffe dagegen gleichwertig oder Kaliumnitrat sogar besser (ARTARI 1906).

NAKANO (1917) fand, dass die Ammoniumsalze für *Chlorella vul-*

garis besser sind als Nitrat, was mit ARTARIS (1906) Untersuchung an *Chlorella communis* übereinstimmt. Für die übrigen untersuchten Algen waren die beiden Arten von Stickstoffsalzen ungefähr gleichwertig. Laut SCHREIBER (1927) bestand deutliche Proportionalität zwischen dem Wachstum von *Carteria* und dem N-Gehalt der verschiedenen Stickstoffquellen. Die beste Stickstoffquelle war Ammoniumchlorid mit einem N-Gehalt von 26,2 %. Darauf folgten Natriumnitrit, Glykokoll und Natriumnitrat in nun genannter Reihenfolge mit einem N-Gehalt von 20,3, 18,6 und 16,4 %. LUDWIG (1938) fand, dass *Chlorella* sowohl Nitrat- wie Ammoniumstickstoff ausnutzen konnte. Hierbei waren die Ammoniumverbindungen dem Nitrat häufig etwas überlegen. In den Ammoniumsalzlösungen kamen störende pH-Senkungen vor. LUDWIG nimmt indessen an, dass der Unterschied bei besserer Pufferung der Lösungen noch grösser gewesen sein würde. NOACK und PIRSON (1939) fanden Nitrat- und Ammoniumstickstoff gleichwertig, wenn nur dafür gesorgt wurde, dass die Lösung stark gepuffert war und die Versuchszeit zur Vermeidung von pH-Verschiebungen kurz gehalten wurde.

Während der letzten Jahren hat die Bedeutung des Mangans für die Nitratassimilation der Pflanzen mehr und mehr die Aufmerksamkeit auf sich gelenkt. BURSTRÖM (1939 a, b, c), der mit aseptischen Weizenwurzeln arbeitete, konnte zeigen, dass Nitrat nur bei Anwesenheit von kleinen Mengen Mangan assimiliert wird. Das Mangan katalysierte nicht nur die Assimilation von Nitrat, sondern auch die von Nitrit. Das bei der Assimilation wirksame Schwermetall lag im Plasma adsorptiv gebunden vor. HOPKINS (1930, 1934) ist der erste, der den Manganbedarf der Grünalgen nachgewiesen hat. Die Wirkung des Mangans auf die Nitratassimilation von *Chlorella* ist von NOACK und PIRSON (1939) sowie später von ALBERTS-DIETERT (1941) behandelt worden. Bei mixo- und heterotropher Ernährungsweise konnte die Bedeutung des Mangans als Katalysator bei der Nitratassimilation nachgewiesen werden. Indessen konnte die Alge in einer manganfreien Lösung die Nitratassimilation auf einen anderen Katalysator umstellen, der nicht Mn-haltig war. Wahrscheinlich konnte das Eisen einen Teil der Funktionen des Mangans übernehmen. Mangan stimulierte auch das Wachstum von *Ulva lactuca* in jenen Fällen, wo die Stickstoffquelle aus Nitrat bestand (A. KYLIN 1943). Wurden statt dessen Ammoniumsalze verwendet, so hatten die zugesetzten Manganmengen keine Wirkung. Zu ähnlichen Ergebnissen ist H. KYLIN (1943) gekommen.

Wie sich aus vorstehender Übersicht ergibt, sind die Angaben über das Unvermögen der Chlorophyceen, sich Nitrat- oder Ammoniumstick-

stoff zugutezumachen, recht spärlich. Die Ansichten über den Vorzug von Ammonium oder Nitrat wechseln. Dies ist auch zu erwarten, da die Aufnahme und die Assimilation dieser Ionen von so vielen Faktoren abhängig sind. Die von mir in Versuch 1—3 erhaltenen Resultate stimmen am besten mit jenen von NOACK und PIRSON (1939) überein, die Nitrat- und Ammoniumstickstoff gleichwertig fanden. Berücksichtigt man indessen, dass die Lösungen nicht gepuffert waren, so will man am ehesten in Übereinstimmung mit LUDWIG (1938) den Ammoniumsalzen eine etwas bessere Wirkung zuschreiben als dem Kaliumnitrat.

Ein Zusatz von Mangan zu den Nährlösungen ist unterblieben, da auch die reinsten Salze hinlängliche Mengen dieses Elementes enthalten (HOPKINS 1934). Bei einer späteren Gelegenheit habe ich es trotzdem für angezeigt erachtet, den Effekt von Mangan bei Verwendung von Nitrat oder Ammonium als N-Quelle zu prüfen.

Versuch 4. Der Einfluss von Mangan auf die Stickstoffassimilation. Zwei Serien wurden angesetzt, eine mit Kaliumnitrat und eine mit Ammoniumchlorid, beide mit Mangan in steigender Konzentration. Zur Nitratserie wurde die Nährlösung A, pH=6,5, benutzt. In der Ammoniumserie wurde das Nitrat durch Ammoniumchlorid in der Konzentration 0,01 g je l ersetzt; pH=6,5. Mangansulfat ($MnSO_4 \cdot 4H_2O$) in mg je l: 0,01, 0,1, . . . 100. Bei der höchsten Konzentration entstand ein Niederschlag. Das pH sank hierbei etwas, wurde aber mit NaOH wieder auf 6,5 eingestellt. Der Versuchsorganismus war *Scenedesmus obliquus*, der in nitrathaltiger Nährlösung aufgezogen worden war. Vor dem Impfen wurden die Algen abzentrifugiert und zweimal mit doppelt destilliertem Wasser unter sterilen Bedingungen gewaschen. Versuchszeit 18 Tage. Tabelle 8.

Aus der Tabelle geht hervor, dass Mangan kaum einen Einfluss auf den Ertrag gehabt hat, ob nun Nitrat oder Ammonium als Stickstoffquelle verwendet worden ist. Das Wachstum war im Versuch ziemlich unregelmässig und in mehreren Fällen haben Parallelproben recht grosse Abweichungen gezeigt. Ein besonderer Zusatz von Mangansalzen zu den Nährlösungen wurde als nicht notwendig erachtet.

Tabelle 8. Der Einfluss von Mangan auf die Stickstoffassimilation (Versuch 4). *Scenedesmus obliquus*. Anzahl Zellen je mm³.

Mangansulfat mg je l	0	0,01	0,1	1	10	100
Kaliumnitrat 0,1 g je l	3 100 3 300	4 200 2 800	3 900 3 800	3 400 3 800	2 900 4 000	1 000 800
Ammoniumchlorid 0,01 g je l	2 800 3 200	3 000 2 400	3 200 2 400	3 200 2 900	2 600 3 100	2 300 2 900

2. Die Konzentration der Nährlösung.

Um eine günstige Konzentration von Mineralsalzen zu finden, stellt man nach PRINGSHEIM (1926) am besten eine konzentriertere Stammlösung her und verdünnt diese stufenweise. Diese Methode ist im folgenden benutzt worden, jedoch mit der Modifikation, dass die Konzentration der Stickstoff- und Eisensalze konstant gehalten wurde.

Versuch 5. Die Konzentration der Nährlösung. Eine Grundlösung, bestehend aus 0,1 g Kaliumnitrat und 0,001 g Ferrichlorid je l wurde mit Magnesiumsulfat, Kalziumsulfat und sekundärem Kaliumphosphat in der Konzentration von 1 g je l für jedes Salz versetzt. Diese Lösung wurde teils unverdünnt, teils auf das 10-, 100- und 1 000-fache verdünnt benutzt. Hierbei wurde mit der Grundlösung verdünnt, sodass der Gehalt an Kaliumnitrat und Ferrichlorid konstant verblieb; pH=7,0. In der höchsten Konzentration entstand bei der Sterilisierung ein Niederschlag. Das Impfmateriale wurde in Nährlösung B aufgezogen. Versuchszeit 17 Tage. Tabelle 9.

Chlorella vulgaris B sowie *Scenedesmus quadricauda* zogen die Konzentrationen 0,1 oder 0,01 g je l vor, wogegen *Stichococcus bacillaris* am besten in konzentrierteren Lösungen, 0,1—1 g je l von jedem Salz, gedeiht. Auch die verdünnteste Lösung hat einen erheblichen Ertrag gegeben.

Im weiteren sind die Mg- und Ca-Salze gewöhnlich in der Konzentration 0,01 g je l benutzt worden. Diese ist optimal für zwei der geprüften Arten, aber zu niedrig für *Stichococcus*. Auch die Konzentration 0,1 g hätte natürlich zur Verwendung kommen können. Um Phosphatniederschläge bei der Verwendung von Pufferlösungen zu vermeiden, ist es jedoch wünschenswert, den Gehalt an Mg und Ca niedrig zu halten. Die Konzentration des Phosphates soll im folgenden Abschnitt erörtert werden.

Tabelle 9. Die Konzentration der Nährlösung (MgSO₄, CaSO₄, K₂HPO₄). Gehalt an KNO₃ und FeCl₃ konstant=0,1 bzw. 0,001 g je l (Versuch 5). Anzahl Zellen je mm³.

g des betr. Salzes je l	1	0,1	0,01	0,001
<i>Chlorella vulgaris</i> B	6 200	16 000	25 000	11 000
	5 700	19 000	29 000	12 000
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	140	2 200	2 000	1 500
	380	2 000	2 200	1 500
<i>Stichococcus bacillaris</i>	14 000	14 000	4 900	6 100
	11 000	11 000	7 000	6 100

3. Die Reaktion der Nährlösung.

Da in einer ungepufferten Lösung eine recht beträchtliche pH-Verschiebung infolge des physiologisch sauren oder alkalischen Salzes der Stickstoffquelle unvermeidlich war, erschien eine Fixierung der Reaktion der Lösung mit Hilfe von Puffersubstanzen zweckmässig. Dies war umso mehr der Fall, als ich aus schon angeführten Gründen oft von einer Bestimmung des endgültigen pH-Wertes der Lösungen Abstand nehmen musste. Von Pufferlösungen eignen sich Phosphatmischungen am besten zu Kulturversuchen.

Die erste Aufgabe bestand darin, eine geeignete Konzentration für die Pufferlösung zu finden, nachdem orientierende Versuche gezeigt hatten, dass die gebräuchlichen m/15 Lösungen leicht Chlorose verursachen.

Versuch 6. Die Wirkung von Phosphatpuffer in verschiedenen Konzentrationen. Es wurde Nährlösung A mit pH=6,5 verwendet. Die Konzentration der Pufferlösung in bezug auf Phosphat betrug jedoch m/30. Durch Verdünnen mit phosphatfreier Nährlösung wurden folgende Konzentrationen erhalten: m/75, m/150, m/300 sowie m/3 000. Das Impfmateriale ist in Nährlösung B aufgezogen worden. Die mit dem Impftropfen zugeführte Phosphatmenge war für das pH der Lösungen bedeutungslos. Versuchszeit 12 Tage. Im Hinblick auf die erwarteten pH-Verschiebungen, die die Resultate beeinflussen konnten, war es zweckmässig, keine allzu lange Versuchszeit zu wählen. Tabelle 10 und 11.

Aus Tabelle 10 geht hervor, dass der grösste Ertrag erhalten wurde bei den Phosphatkonzentrationen m/150 und m/300, entsprechend ca. 1 bzw. $\frac{1}{2}$ g Gesamtalkaliphosphat je l. Da Mg und Ca in niedriger Konzentration vorhanden waren, entstanden keine Niederschläge. In der m/300-Lösung beginnen die pH-Verschiebungen sich geltend zu machen (Tabelle 11) und in der m/3 000-Lösung sind sie beträchtlich. Eine Andeutung von Chlorose konnte in der höchsten Konzentration bei *Scenedesmus quadricauda* und *Stichococcus bacillaris* beobachtet werden.

Versuch 7. Die Bedeutung des pH für das Wachstum. Eine phosphatfreie Lösung A wurde in zwei Teile geteilt, die dann mit primärem Kalium- bzw. sekundärem Natriumphosphat in der Konzentration m/150 versetzt wurden. Die Lösungen wurden in solchen Verhältnissen gemischt, dass die in Tabelle 12 angegebenen pH-Werte erhalten wurden (RONA 1926). In diesem Versuch wurde auch eine *Hormidium*-Art untersucht. Versuchszeit 18 Tage. Tabelle 12 und 13. Abb. 2 und 3.

Die von RONA (1926) angegebenen pH-Werte wurden durch Mischung von primärem mit sekundärem Phosphat in der Konzentration m/15 mit Aq.

Tabelle 10. Die Wirkung des Phosphatpuffers in verschiedenen Konzentrationen. pH=6,5 (Versuch 6). Anzahl Zellen je mm³.

Phosphat in Mol je l	1/30	1/75	1/150	1/300	1/3000
<i>Chlorella vulgaris</i> B	2 300	2 200	2 700	3 500	1 700
	2 400	2 100	3 600	3 400	2 500
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	550	680	890	730	630
	590	630	740	600	490
<i>Stichococcus bacillaris</i>	2 800	3 300	3 400	4 700	1 600
	3 800	3 000	2 300	3 100	1 100

Tabelle 11. Die Wirkung des Phosphatpuffers in verschiedenen Konzentrationen (Versuch 6). Das pH am Ende des Versuches. Anfangs-pH=6,5.

Phosphat in Mol je l	1/30	1/75	1/150	1/300	1/3000
<i>Chlorella vulgaris</i> B	6,5	6,5	6,5	6,5	6,7
	6,5	6,5	6,5	6,7	6,7
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	6,5	6,5	6,5	6,6	6,9
	6,5	6,5	6,5	6,6	7,0
<i>Stichococcus bacillaris</i>	6,5	6,5	6,5	6,7	7,7
	6,5	6,5	6,5	6,6	7,8

dest. als Lösungsmittel erhalten. Im vorliegenden Fall ist das Phosphat in der Konzentration m/150 zur Verwendung gelangt. Eine Neutralsalze enthaltende Lösung diente als Lösungsmittel. Das pH von Pufferlösungen ist bekanntlich unabhängig von der absoluten Konzentration der Substanzen. Dies gilt indessen nur approximativ. MICHAELIS und KRÜGER (1921) fanden für einen m/15 Phosphatpuffer mit pH 6,8 bei zunehmender Verdünnung eine Verschiebung gegen den Neutralpunkt. Ein durch Verdünnen erhaltener m/150 Puffer sollte nach ihnen ein pH von ungefähr 7,0 anstatt 6,8 geben (der Wert wurde durch graphische Interpolation erhalten). MICHAELIS und KRÜGER verwendeten indessen kohlenstoffsaurefreies Wasser. Bei Verdünnung mit sowohl »kohlenstoffsaurefreiem« (Aufkochen, schnelles Abkühlen) wie kohlenstoffsaurehaltigem Wasser wurden folgende Werte erhalten:

Konzentration	Berechnetes pH	Gefundenes pH
m/15	6,8	6,8
m/150 (CO ₂ -freies Wasser)	7,0	6,9
m/150 (CO ₂ -haltiges Wasser)	—	6,8

Hieraus ergibt sich, dass eine Verdünnung mit kohlenstoffsaurehaltigem Wasser keine pH-Verschiebung mit sich bringt. Ein anderer Faktor, der das pH der Pufferlösungen beeinflusst, ist der Gehalt an Neutralsalzen. Laut Untersuchungen von MICHAELIS und KRÜGER (1921) verursachen Neutralsalze erhebliche pH-Verschiebungen in saurer Richtung. Diese sind nicht nur von der

Tabelle 12. Die Bedeutung des pH für das Wachstum (Versuch 7; Abb. 2 und 3). Anzahl Zellen je mm³. Für Hormidium bedeutet ++ sehr gutes, + gutes Wachstum.

pH	4,6	4,9	5,5	6,0	6,5	7,0	7,5	7,9
<i>Chlorella vulgaris</i> B	1 100 1 300	2 200 1 900	3 300 3 300	3 600 3 600	4 700 4 100	7 000 7 000	9 900 10 000	14 000 14 000
<i>Chlorella vulgaris</i> M	1 400 1 300	3 800 3 500	5 500 5 000	5 900 6 200	6 600 6 900	10 000 10 000	16 000 16 000	16 000 17 000
<i>Scenedesmus obliquus</i> ...	1 500 1 500	1 900 1 900	2 100 2 300	2 800 2 300	3 500 2 900	4 600 4 700	6 400 5 600	11 000 8 000
<i>Scenedesmus dimorphus</i> ..	1 200 1 100	1 300 1 500	2 400 2 300	2 400 2 600	3 000 2 800	4 000 3 600	5 200 4 600	6 600 6 900
<i>Scenedesmus acuminatus</i>	160 350	210 190	520 690	980 800	1 600 1 600	2 100 1 900	3 500 3 300	5 200 4 900
<i>Scenedesmus acutiformis</i>	± ±	± ±	± ±	80 80	70 40	180 140	210 190	260 450
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	110 80	100 90	380 370	770 620	900 900	1 500 1 400	2 200 2 300	3 900 3 200
<i>Stichococcus bacillaris</i> ...	± ±	260 420	300 370	540 870	1 100 2 800	2 500 2 400	2 800 3 700	3 300 3 100
<i>Hormidium sp.</i>	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	+ +	+ +

Tabelle 13. Die Bedeutung des pH für das Wachstum (Versuch 7). Das pH am Ende des Versuches.

Anfangs-pH	4,6	4,9	5,5	6,0	6,5	7,0	7,5	7,9
<i>Chlorella vulgaris</i> B	5,6 5,6	5,6 5,5	5,9 6,0	6,2 6,2	6,5 6,5	7,1 7,1	7,5 7,5	8,0 8,0
<i>Chlorella vulgaris</i> M	5,7 5,3	5,6 5,5	5,9 5,8	6,2 6,1	6,5 6,5	7,1 7,1	7,5 7,5	8,1 8,1
<i>Scenedesmus obliquus</i>	5,6 5,6	5,6 5,7	5,9 5,9	6,1 6,1	6,6 6,5	7,0 7,1	7,5 7,5	8,0 8,0
<i>Scenedesmus dimorphus</i>	5,6 5,6	5,6 5,7	5,9 6,0	6,2 6,2	6,6 6,6	7,0 7,0	7,5 7,5	8,0 8,1
<i>Scenedesmus acuminatus</i>	5,0 5,0	5,3 5,3	5,8 5,8	6,1 6,1	6,5 6,5	7,0 7,0	7,5 7,5	8,1 8,1
<i>Scenedesmus acutiformis</i>	4,6 4,6	5,2 5,3	5,9 5,8	6,1 6,1	6,5 6,5	7,1 7,0	7,5 7,3	8,0 8,0
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	5,0 5,0	5,3 5,3	5,9 5,8	6,2 6,2	6,6 6,6	7,1 7,1	7,5 7,5	8,2 8,1
<i>Stichococcus bacillaris</i>	4,7 4,7	5,1 5,1	5,7 5,7	6,1 6,0	6,5 6,5	7,0 7,0	7,5 7,5	8,0 7,5
<i>Hormidium sp.</i>	5,9 6,0	5,9 6,1	6,1 6,2	6,3 6,4	6,7 6,7	7,2 7,3	7,5 7,5	8,1 8,1

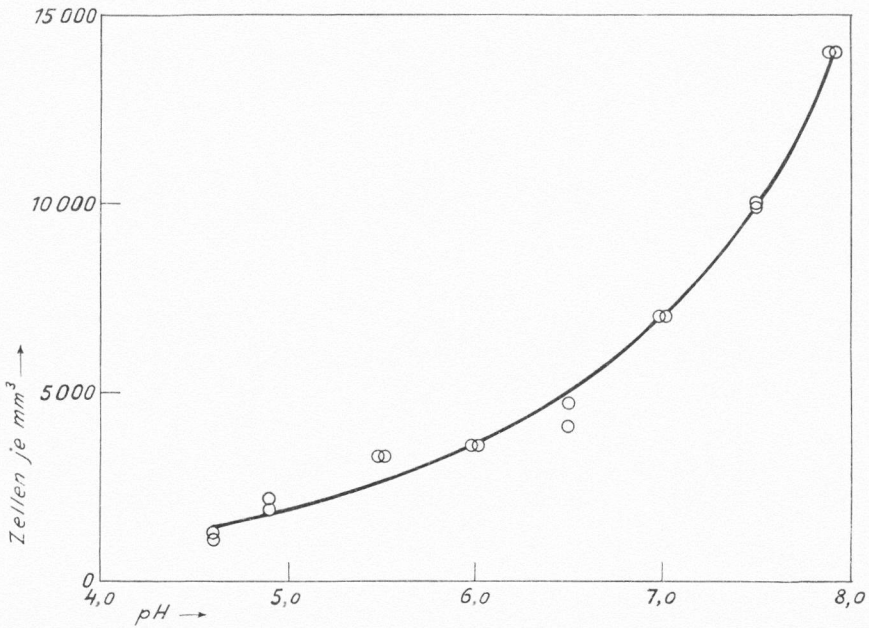


Abb. 2. Das Wachstum von *Chlorella vulgaris* B bei verschiedenem pH. Die Abszisse gibt das pH, die Ordinate den Ertrag in Anzahl Zellen je mm³ an (Versuch 7, Tabelle 12).

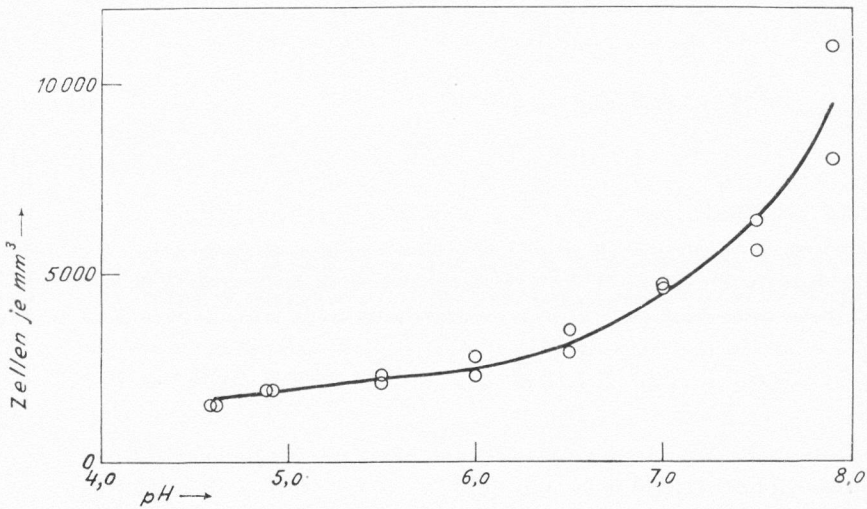


Abb. 3. Das Wachstum von *Scenedesmus obliquus* bei verschiedenem pH. Die Abszisse gibt das pH, die Ordinate den Ertrag in Anzahl Zellen je mm³ an (Versuch 7, Tabelle 12).

Konzentration der betr. Salze, sondern auch von ihrer spezifischen Natur abhängig. Um festzustellen, wie sich die von mir benutzte Nährlösung in dieser Hinsicht verhält, wurde ein m/15 Phosphatpuffer mit pH 6,8 mit Nährlösung auf das Zehnfache verdünnt, sodass die schliessliche Konzentration der Salze der unter Nährlösung A angegebenen entsprach. Die Lösung zeigte eine so unbedeutende Verschiebung in saurer Richtung ($<0,05$), dass sie ganz vernachlässigt werden konnte. Dies dürfte mit dem geringen Gehalt der Lösung an Neutralsalzen zusammenhängen. Während das pH von der Verdünnung verhältnismässig unabhängig ist, wird wie bekannt die Kapazität des Puffers mit abnehmender Konzentration erheblich vermindert.

WANN und HOPKINS (1927) benutzten zu ihren Versuchen mit *Chlorella* Kaliumphosphat + Kaliumhydroxyd, um pH-Werte bis zu 9,7 zu erreichen. Wurde indessen die Lösung A, pH=8,2, mit NaOH bis zu pH=10,2 versetzt und darauf Luft durch die Lösung gesaugt, so zeigte diese nach 45 Minuten ein pH=9,2 und nach 2,5 Stunden ein pH=8,0. Die gleiche Senkung trat ein, wenn die Lösung ungestört eine Zeit stehen gelassen wurde. Es war demnach unmöglich, in diesem Gebiet mit Phosphat + Alkali konstante pH-Werte zu erreichen. Erst im pH-Gebiet 11—12 macht sich die Pufferwirkung in diesem System geltend (KOLTHOFF 1926).

Aus Tabelle 12 sowie aus Abbildung 2 und 3 geht hervor, dass das Wachstum mit steigendem pH zunimmt. Auch nach Passieren des Neutralpunktes setzt die Zunahme fort und die höchsten Werte wurden in den am stärksten alkalischen Lösungen (pH=7,9) erhalten. In den sauersten Lösungen war der Ertrag oft sehr gering, wie für *Scenedesmus acutiformis*, *Scenedesmus quadricauda* und *Stichococcus bacillaris*. Nur *Hormidium* zeigte in saurer Lösung ein besseres Wachstum als in alkalischer.

Tabelle 13 zeigt die pH-Verschiebungen. Wie ersichtlich sind sie in dem Gebiet mit der grössten Pufferkapazität (bei etwa 6,8) ganz fehlend oder unbedeutend. Auch in den alkalischen Lösungen sind sie gering, was auf den Einfluss der Kohlensäure zurückzuführen ist. Auf der sauren Seite sind sie dagegen erheblich. In der Lösung mit einem Anfangs-pH von 4,6 kommen Verschiebungen von mehr als einer Einheit vor. In der Lösung mit einem Anfangs-pH von 4,9 sind sie schon kleiner. Dann nehmen sie mit steigender Pufferkapazität weiter ab. Aus den Tabellen geht ferner hervor, dass die pH-Veränderungen bei schlechtem Wachstum gering gewesen sind (*Scenedesmus acutiformis* und *Stichococcus bacillaris*).

Noch ein weiterer Versuch über die Bedeutung des pH wurde angestellt, wobei die Versuchsbedingungen so variiert wurden, dass der Phosphatpuffer die Konzentration m/300 hatte und das Eisen als Ferri-

zitat zugesetzt wurde. Gleichwie in den früheren Versuchen war der Ertrag auf der alkalischen Seite am grössten. Die pH-Verschiebungen waren dagegen erheblich. Eine Lösung mit einem Anfangs-pH von 6.7 zeigte am Ende der Versuchszeit eine Verschiebung um 0.5 Einheiten.

In der Mehrzahl der folgenden Versuche ist das Phosphat in der Konzentration m/150 verwendet worden. Das pH wurde je nach den Versuchsbedingungen variiert. Meistens ist eine schwach saure oder eine neutrale Lösung zur Verwendung gelangt.

Ältere Untersuchungen über eine für die Algen geeignete Reaktion enthalten natürlich keine genaueren Angaben über das pH der Lösungen. Meistens begnügte man sich mit der Angabe, ob sie primäres oder sekundäres Phosphat enthielten, wobei man stillschweigend annahm, dass die Lösung schwach sauer bzw. alkalisch gewesen ist. Hierbei ist indessen, wie oben hervorgehoben worden ist, der Gehalt der Lösung an Neutralsalzen von Bedeutung. Approximativ kann man jedoch behaupten, dass die sekundären Phosphate eine schwach alkalische oder neutrale Reaktion geben, die primären eine mehr oder weniger saure.

Laut MOLISCH (1896) ziehen die Algen in der Regel eine schwach basische Lösung vor. BENECKE (1898) fand, dass die Reaktion für *Horridium* ziemlich gleichgültig ist und ARTARI (1913) glaubt nicht, dass diesem Faktor grössere Bedeutung zukommt. Dem Zusammenhang zwischen der Veränderung der Reaktion und der Beschaffenheit der Stickstoffquelle wurde von ARTARI (1906, 1913) Aufmerksamkeit geschenkt. Versuche, um die Wasserstoffionenkonzentration zu stabilisieren, wurden von ARTARI jedoch nicht gemacht. In einer Arbeit über die Ernährungsphysiologie der Cyanophyceen verwendet dagegen MAERTENS (1914), soweit ich habe finden können, zum erstenmal Pufferlösungen in der Algenphysiologie. Laut MAERTENS ist die alkalische Reaktion am vorteilhaftesten. Eine Erhöhung der Alkalität wurde besser vertragen als eine Zunahme der Azidität.

HOPKINS und WANN (1926) verwendeten einen m/15 Phosphatpuffer in einer Untersuchung über die optimale Wasserstoffionenkonzentration für *Chlorella*. Solange das pH niedriger als 5,7 war, zeigte sich das Wachstum dem pH direkt proportional. Die untere Grenze lag bei 3,4. Bei 5,7 übersteigenden Werten nahm der Ertrag schnell ab und 6,7 konnte als obere Grenze gesetzt werden. Das Ergebnis konnte mit in den Lösungen auftretenden Niederschlägen in Zusammenhang gebracht werden. Alle Lösungen mit einem niedrigeren pH als 5,7 waren ganz

klar, während nach Überschreiten dieses Wertes erhebliche Niederschläge auftraten. Diese bestanden aus Magnesium-, Kalzium- und vermutlich auch aus Ferriphosphat. In weiteren Versuchen konnten die Verfasser zeigen, dass der verminderte oder ausgebliebene Ertrag bei höheren pH-Werten auf Eisenmangel zurückzuführen war. Mit Hilfe gewisser organischer Substanzen, vor allem Natriumzitrat war es indessen möglich, das Eisen auch in einem alkalischen Medium in Lösung zu halten. Die obere pH-Grenze wurde in einer späteren Untersuchung festgestellt (WANN und HOPKINS 1927). Zwischen 5,1 und 6,9 wurde ein ziemlich gleichförmiges Wachstum erhalten. Von 6,9 bis 8,0 nahm es schnell ab und in Lösungen mit höherem pH hörte es ganz auf. Die obere Grenze wurde approximativ bei 8,3 festgesetzt. Quantitative Analysen zeigten, dass bei diesem pH-Wert Eisen (Ferrizitrat) in genügenden Mengen in der Lösung vorhanden war.

Auch LUCKSCH (1932) verwendete zu Untersuchungen über die Ernährungsphysiologie der Chlamydomonadeen Phosphatpuffer in verschiedener Verdünnung und mit verschiedenem pH. Das beste Wachstum wurde in neutraler oder schwach alkalischer Lösung beobachtet. PRINGSHEIM (1930) konnte dagegen wegen der grossen Empfindlichkeit des Untersuchungsmaterials (*Micrasterias*, *Volvox*) keine Phosphatmischungen benutzen. ONDRATSCHEK (1940 a) fand eine Phosphatkonzentration von m/300 nicht schädlich. Die Pufferkapazität war jedoch gering. Das pH-Optimum lag in der Nähe des Neutralpunktes (*Eugleninae*, *Chlamydomonadae*, *Ulotrichales*).

Aus eigenen Versuchen geht hervor, dass die Reaktion der Lösung von grösster Bedeutung ist. Während WANN und HOPKINS (1927) zwischen pH 5 und 7 ein gleichförmiges Wachstum mit einer schnellen Abnahme desselben zu beiden Seiten dieser Werte fanden, gaben meine Versuche mit einer einzigen Ausnahme eine Ertragssteigerung mit steigendem pH von 4,6 bis 7,9. Ob der letztere Wert optimal ist, oder ob ein höheres pH den Ertrag des weiteren zu steigern vermag, darüber gibt der Versuch keine Auskunft. Wahrscheinlich sind die Unterschiede zwischen meinen Resultaten und jenen von WANN und HOPKINS durch Unterschiede in der Beschaffenheit des lebenden Materials bedingt.

4. Der Bedarf der Algen an Eisen.

Aus der oben besprochenen Untersuchung von HOPKINS und WANN (1926) geht hervor, wie intim das Problem des Eisenbedarfs der Pflan-

Tabelle 14. Der Bedarf der Algen an Eisen (Versuch 8). Anzahl Zellen je mm³.

pH	6,5				7,5			
	—	FeCl ₃	Fe-Zitrat	FeCl ₂	—	FeCl ₃	Fe-Zitrat	FeCl ₂
Konzentr. in g je l ..	0	0,001	0,001	0,001	0	0,001	0,001	0,001
<i>Chlorella vulgaris</i> B ..	3 800 3 900	3 800 4 300	3 500 3 100	3 800 5 000	3 500 3 900	7 500 8 500	9 100 10 000	10 000 11 000
<i>Scenedesmus obliquus</i>	900 770	600 730	610 670	640 620	1 200 1 300	1 700 1 400	1 900 1 700	1 900 2 100
<i>Stichococcus bacillaris</i>	4 200 6 600	7 800 6 700	7 800 9 000	7 700 6 000	5 100 5 400	6 300 4 700	9 100 8 900	8 800 —

zen mit der Reaktion der Nährlösung verknüpft ist. Der Bedarf an Eisen wird daher zweckmässig in diesem Zusammenhang behandelt.

Versuch 8. Der Bedarf der Algen an Eisen. Es wurde eine Nährlösung A mit pH 6,5 zubereitet. Das Ferrichlorid wurde jedoch weggelassen. Die Lösung wurde teils direkt, teils nach Zusatz von Ferrichlorid, Ferrizitrat sowie Ferrochlorid verwendet, sämtliche Fe-Verbindungen in der Konzentration 0,001 g je l.

Eine weitere Serie von Eisensalzlösungen wurde bereit gestellt, aber hier hatte die Grundlösung ein pH von 7,5. Die Algen wurden in eisenfreier Nährlösung B aufgezogen. pH-Verschiebungen wurden durch Verkürzung der Versuchszeit auf 12 Tage vermieden, Tabelle 14.

In saurer Lösung nimmt der Ertrag bei Zusatz von Eisensalzen nicht oder nur unbedeutend zu. Es kann damit gerechnet werden, dass genügende Mengen von Eisen in Form von Verunreinigungen der übrigen Salze vorhanden waren oder mit der Impfmenge zugeführt worden sind. Bei saurer Reaktion bleibt das Eisen in Lösung und ist für die Algen leicht zugänglich.

In alkalischer Lösung dagegen, wo das Eisen leicht durch Phosphat ausgefällt wird, wird das Wachstum durch Eisenzusatz beträchtlich verbessert. Hierbei sind Ferrizitrat und Ferrochlorid dem Ferrichlorid überlegen, da das Eisen im Ferrichlorid leichter ausgefällt wird. Zitronensäure hält das Eisen komplex gebunden.

Von Interesse ist ferner ein Vergleich zwischen den eisenfreien Lösungen mit pH 6,5 und 7,5. Trotzdem die letztere Lösung ein günstigeres pH hat, sind die Unterschiede im Ertrag unbedeutend. Ein Eisenmangel in der alkalischen Lösung wirkt offenbar wachstumsgrenzend, sodass sich die pH-Veränderung in günstiger Richtung nicht geltend machen kann. Wird den alkalischen Lösungen Eisen, am

besten in der Form von Ferrizitrat und Ferrochlorid zugeführt, so nimmt der Ertrag erheblich zu, während er bei pH 6.5 einigermassen unverändert bleibt.

Ältere Arbeiten enthalten gewöhnlich keine genaueren Angaben über die Konzentration des Eisens (MOLISCH 1895, GRINTZESCO 1902, 1903, PALLADIN 1904, PETRASCHEVSKY 1904, ARTARI 1904, 1906). Gewöhnlich wird erwähnt, dass die Lösungen mit einer Spur von Eisen versetzt worden sind. Zuweilen wurden überhaupt keine Eisenverbindungen zugesetzt (KRÜGER 1894, KLEBS 1896). Erst um 1925 rückt die Frage nach der Bedeutung des Eisens in den Vordergrund. Verursacht wurde dies durch eine von USPENSKI (1927) aufgestellte Hypothese über die Bedeutung des Eisens als des ausschlaggebenden Faktors für die Verbreitung der Algen in der Natur.

In Kulturversuchen mit *Volvox* fanden USPENSKI und USPENSKAJA (1925) es möglich, diese Alge in reiner Mineralsalzlösung von pH=7,6 zu kultivieren, wenn nur dafür gesorgt wurde, dass das Eisen in assimilierbarer Form vorhanden war. Der Nährlösung musste regelmässig Eisen zugesetzt werden, da dieses unter dem Einfluss des Lichtes ausgefällt wurde. Ein hoher pH-Wert und ein hoher Phosphatgehalt trugen zur Ausfällung des Eisens bei. Mit Hilfe von Natriumzitrat war es indessen möglich, dies zu verhindern. Hierbei wird nämlich eine komplexe Verbindung gebildet, die die Konzentration der Ferriionen erheblich herabsetzt. Die Lösung wirkt überdies wie ein Puffer in bezug auf Eisen. In zittrathaltigen Lösungen entwickelte sich *Volvox* am besten bei Konzentrationen von 2,5—5 mg Fe_2O_3 je l. Eine solche Konzentration von anorganischem Eisen wirkte stark giftig. Wenn die Algen in alkalischer Lösung zugrundegingen, so war laut USPENSKI und USPENSKAJA die wirkliche Ursache hierfür Eisenmangel und nicht das pH.

HOPKINS und WANN (1927) sowie HOPKINS (1930) fanden gleichfalls das Eisen nur in der Form von Ionen physiologisch wirksam. Die Wirkung von Zitrat stand in direktem Zusammenhang mit seinem Einfluss auf die Ferriionenkonzentration. PRINGSHEIM (1930, 1934) konnte mehrere der von USPENSKI und USPENSKAJA gemachten Beobachtungen bestätigen. USPENSKIS (1927) schon erwähnter Eisenhypothese konnte er jedoch nicht beitreten.

Eigene Ergebnisse zeigen gute Übereinstimmung mit den oben besprochenen Arbeiten. Ein wesentlicher Unterschied besteht indessen darin, dass die von mir untersuchten Algen durch eine pH-Erhöhung in ihrem Wachstum nicht gehemmt, sondern im Gegenteil gefördert wurden. Dass die alkalische Reaktion jedoch nachteilig auf die Menge

assimilierbaren Eisens einwirkt, geht daraus hervor, dass Ferrizitrat mit Eisen in leichtzugänglicher Form ein besseres Wachstum gegeben hat als Ferrichlorid.

Da die Reaktion der Lösung in den folgenden Versuchen in den meisten Fällen schwach sauer oder neutral gewesen ist, wurde das Eisen in der Form von Ferrichlorid zugesetzt. Hierdurch wird das Einführen von organischen Verbindungen in die Mineralsalzlösungen vermieden.

5. Die Grösse der Impfmenge.

Dass die Grösse der Impfmenge für das Wachstum der Mikroorganismen von Bedeutung ist, wurde zum erstenmal von WILDIERS (1901) nachgewiesen. Wurde eine synthetische Nährlösung mit genügend kleinen Mengen Hefe geimpft, so kam diese nicht zur Entwicklung. Hierfür war eine spezielle organische Substanz erforderlich, die WILDIERS Biöse nannte und die bei stärkerem Impfen in genügender Menge von der Mutterkultur übergeführt wurde.

Das Wachstum der Algen scheint im allgemeinen von der Grösse der Impfmenge einigermaßen unabhängig zu sein (ONDRATSCHKE 1940 d, 1941 a, ALBERTS-DIETERT 1941). Man kennt jedoch auch Beispiele für das Entgegengesetzte (KOSSOWITSCH 1894, ONDRATSCHKE 1941 b). Aus diesem Grund wurde folgender Versuch angestellt.

Versuch 9. Die Bedeutung der Grösse der Impfmenge. Lösung B; pH=7,1. Der Versuch wurde in Kolben von 150 ml mit 50 ml Nährlösung ausgeführt. Es wurden vier Doppelserien bereit gestellt, die mit 1, 3, 5 bzw. 10 Tropfen einer *Scenedesmus quadricauda*-Kultur geimpft wurden. Jeden dritten Tag wurde auf sterilem Wege eine Probe entnommen und ausgezählt. Versuchszeit 26 Tage. Tabelle 15.

Tabelle 15. Die Bedeutung der Grösse der Impfmenge (Versuch 9). *Scenedesmus quadricauda*. Die Kultur mit der kleinsten Impfmenge wurde in jedem Zeitpunkt als Einheit genommen und der Ertrag in den übrigen Kulturen im Verhältnis zu dieser berechnet.

Anzahl Impftropfen	1	3	5	10
Ertrag nach 0 Tagen	1,0	3,0	5,0	10,0
» » 3 »	1,0	2,0	2,6	3,5
» » 6 »	1,0	2,0	2,2	2,9
» » 9 »	1,0	1,3	1,8	2,1
» » 12 »	1,0	1,1	1,5	1,8
» » 15 »	1,0	1,1	1,3	1,5
» » 18 »	1,0	1,2	1,3	1,4
» » 26 »	1,0	1,1	1,1	1,2

In Tabelle 15 ist die Kultur mit der kleinsten Impfmenge in jedem Zeitpunkt als Einheit genommen, und der Ertrag der übrigen im Verhältnis zu dieser berechnet worden. Aus der Tabelle geht hervor, dass die Unterschiede in der Impfmenge ohne Bedeutung sind, wenn die Ertragsbestimmungen erst an den ausgewachsenen Kulturen gemacht werden. Wird der Ertrag dagegen in einem früheren Stadium bestimmt, so können im Zusammenhang mit verschiedener Impfmenge erhebliche Unterschiede auftreten. Sind die Unterschiede klein, so werden sie schnell ausgeglichen. Während sich die Impfmengen wie 1 : 3 : 5 : 10 verhielten, war das Verhältnis zwischen der Zellenanzahl je mm³ nach 15 Tagen 1 : 1,1 : 1,3 : 1,5.

Die Erfahrungen bei der Reinzüchtung von *Ankistrodesmus falcatus* haben jedoch dargetan, dass die Grösse der Impfmenge für das weitere Wachstum entscheidend sein kann. Isolierte Zellen dieser Alge zeigten, wie schon erwähnt, keine oder nur eine geringe Anzahl von Teilungen in reiner Mineralsalzlösung oder in Erdabkochung. War die Impfmenge genügend gross, so wurde dagegen eine normale Entwicklung erhalten. Auch das Wachstum von *Chlorella sp. A* hat bei Verwendung kleiner Impfmengen zuweilen fehlgeschlagen. Man kann annehmen, dass die Verhältnisse hier denen bei der Hefe analog sind (WILDIERS 1901).

Um eine so gleichmässige Impfung wie möglich zu erreichen, wurde das schon beschriebene Impfrohr konstruiert. Die Reagenzrohre wurden gewöhnlich mit einem oder ein paar Tropfen der Mutterkultur geimpft. Von *Chlorella sp. A* und *Ankistrodesmus falcatus* wurde jedoch gewöhnlich eine grössere Anzahl Tropfen (5—10) zugesetzt.

Die Wachstumskurven von *Chlorella vulgaris* B, *Scenedesmus quadricauda* sowie *Stichococcus bacillaris* zeigten, dass die Kulturen nach etwa 20—22 Tagen ausgewachsen waren. Da die Belichtung und Temperatur etwas variiert haben, gelten diese Werte natürlich nicht für alle Versuche. Sie sind nur als ungefähr aufzufassen. Es wurde indessen nicht für notwendig erachtet, mit den Ertragsbestimmungen bis zum vollen Auswachsen der Kulturen zu warten, da bestehenbleibende Unterschiede gewöhnlich schon in einem viel früheren Stadium zutage traten. Häufig wurde eine Versuchszeit von 15 Tagen gewählt, bisweilen wurde sie weiter verkürzt.

6. Zusammenfassung.

Die in diesem Kapitel angeführten Resultate gründen sich auf quantitative Untersuchungen einer kleineren Anzahl von Versuchsorganismen. Qualitative Versuche mit den übrigen Arten zeigten indessen, dass die Ergebnisse im grossen auch für diese Gültigkeit besitzen.

Kaliumnitrat in der Konzentration von 0,1 g je l diente im weiteren gewöhnlich als Stickstoffquelle. Die pH-Verschiebungen mit diesem Salz sind nämlich klein oder ganz fehlend bei der Verwendung von Pufferlösungen in geeigneter Konzentration. In einzelnen Versuchen ist Ammoniumchlorid (0,01 g je l) verwendet worden. Ein besonderer Zusatz von Mangan ist nicht als erforderlich betrachtet worden.

Magnesium- und Kalziumsulfat sind in den folgenden Versuchen in der Konzentration von 0,01 g je l verwendet worden. Bei dieser Konzentration werden Niederschläge auch bei verhältnismässig hohem Phosphatgehalt und hohem pH vermieden.

Phosphatpuffer ist in der Konzentration $m/150$ benutzt worden. Hierdurch wird das pH der Lösung einigermaßen stabilisiert, ohne dass das Wachstum gehemmt wird. Das pH der Nährlösungen musste den Versuchsbedingungen angepasst werden. Da diese häufig eine saure Reaktion notwendig gemacht haben, ist das pH selten optimal gewesen.

Eisen ist in der Form von Ferrichlorid (0,001 g je l) zugesetzt worden. Wenigstens in schwach saurer Lösung ist es gleich gut wie Ferrizitrat. Ausserdem wurde hierdurch das Einführen von organischen Substanzen in die Mineralsalzlösung vermieden.

Die Reagenzrohre einer Versuchsserie sind mit möglichst gleichen Mengen geimpft worden. Die Ertragsbestimmungen wurden vor dem vollen Auswachsen der Kulturen vorgenommen. Häufig ist eine Versuchszeit von 15 Tagen gewählt worden.

IV. Organische Kohlenstoff- und Stickstoffquellen.

Unter den organischen Stoffen, die als Kohlenstoffquelle für Algen in Betracht kommen können, sind Kohlehydrate, mehrwertige Alkohole sowie organische Säuren von grösstem Interesse. Unter den organischen stickstoffhaltigen Verbindungen kommen Aminosäuren, Amide und Pepton in erster Linie in Betracht.

1. Kohlehydrate.

Versuch 10. Die Wirkung von Glukose und Saccharose in steigender Konzentration. Nährlösung A mit pH 6,5 (zur Vermeidung von Karamelbildung beim Sterilisieren). Glukose (Schwedische Pharmakopöe, Ed. X, aus Alkohol umkristallisiert) sowie Saccharose (Merck) wurden in den in Tabelle 16 angegebenen Konzentrationen zugesetzt. Die Lösungen wurden mit *Chlorella vulgaris* B geimpft und teils in Licht aufgehängt, teils in Dunkel gestellt. Versuchszeit 15 Tage. Tabelle 16.

Glukose gibt bei mixotropher Ernährungsweise schon bei der niedrigsten der geprüften Konzentrationen, 1,00 g je l, maximalen Effekt. Der Ertrag ist hier ungefähr zehnmal so gross wie in der Kontrolle.

Tabelle 16. Die Wirkung von Glukose und Saccharose in steigender Konzentration (Versuch 10). *Chlorella vulgaris* B. Anzahl Zellen je mm³.

Konzentr. in g je l . . .	0	0,5	1	5	10	20	30	40	50
Glukose									
Lichtkulturen	3 500	—	35 000	28 000	25 000	22 000	25 000	20 000	16 000
	3 200	—	32 000	28 000	30 000	28 000	23 000	19 000	15 000
Dunkelkulturen . . .	±	—	1 400	3 900	4 200	3 500	2 900	3 700	3 800
	±	—	1 800	3 000	2 900	4 800	4 100	3 700	2 900
Saccharose									
Lichtkulturen	3 500	4 300	4 600	4 600	5 200	5 600	7 600	6 800	6 900
	3 200	4 500	4 500	4 700	5 000	5 600	7 500	6 700	7 600
Dunkelkulturen . . .	±	660	600	690	1 100	1 500	1 800	2 300	2 300
	±	530	600	980	1 100	1 400	1 800	1 900	2 600

Bei höheren Konzentrationen nimmt er wieder ab, ist aber noch bei 50 g je l etwa fünfmal so gross wie in der Kontrolle. Bei heterotropher Ernährung ist das Ergebnis etwas anders. Die niedrigste Konzentration ist den übrigen deutlich unterlegen. Diese zeigen andererseits keine auffallenden Unterschiede, obgleich das Wachstum etwas ungleichmässig gewesen ist. Die glukosefreie Kontrolle im Dunkeln zeigte nur einen unbedeutenden Ertrag. In dieser wurden keine Auszählungen gemacht. Im weiteren ist Glukose in der Konzentration 10 g je l verwendet worden.

Saccharose gibt sowohl im Licht wie im Dunkel einen Ertrag, der der Konzentration direkt proportional ist. Im Licht ist er in der höchsten Konzentration etwa zweimal so gross wie in der Kontrolle, im Dunkel ist er der Kontrolle vielmal überlegen. Mit Hinblick auf den eigentümlichen Verlauf des Wachstums — maximale Wirkung wurde noch nicht einmal bei 50 g je l erreicht — kann man vermuten, dass eine in der Saccharose vorhandene Verunreinigung für die Ertragssteigerung verantwortlich ist. Es kann auch die Möglichkeit bestehen, dass Saccharose in der schwach sauren Lösung bei der Sterilisierung hydrolytisch gespaltet wird.

Um klarzulegen, wie es sich hiermit verhält, wurde eine Nährlösung A, mit $\text{pH}=6,5$ und 50 g Saccharose je l enthaltend, im Autoklaven 45 Minuten bei 1 Atmosphäre Überdruck erhitzt. Um ein deutliches Resultat zu erhalten, wurden hohe Konzentration und lange Sterilisierungszeit gewählt. Die Lösung, die vor der Sterilisierung nicht reduzierte, gab nach dem Autoklavieren einen deutlichen Niederschlag mit FEHLINGScher Lösung.

Aus dem Versuch geht hervor, dass Saccharose beim Autoklavieren in schwach saurer Lösung etwas gespaltet wird, sowie dass die in kleinen Mengen gebildeten Hexosen für die Ertragssteigerung verantwortlich gemacht werden können. Der Versuch gibt dagegen keinen Aufschluss darüber, ob die Saccharose überdies selbst einen Nährwert besitzt. Im weiteren wurden die organischen Lösungen fraktioniert sterilisiert (100°).

Versuch 11. Kohlehydrate als Kohlenstoffquelle. Nährlösung A mit $\text{pH}=6,5$ wurde mit folgenden Kohlehydraten, sämtliche in der Konzentration 10 g je l, versetzt: die Monosaccharide Glukose (Schwedische Pharmakopöe, Ed. X, aus Alkohol umkristallisiert) und Galaktose sowie die Disaccharide Saccharose (Merck) und Maltose. Galaktose und Maltose waren ohne Qualitätsbezeichnung. In bezug auf die Reinheit der Präparate siehe Versuch 12. Die Konzentration wurde im Hinblick auf die mit Glukose in Versuch 10 erhaltenen Resultate gewählt. Die Saccharoselösungen wurden nach der Sterilisierung auf

die Abwesenheit von Monosacchariden geprüft. Licht und Dunkel. Versuchszeit 15 Tage. Tabelle 17.

Glukose war praktisch in sämtlichen Fällen eine sehr gute Kohlenstoffquelle bei sowohl mixo- wie heterotropher Ernährung. Der Ertrag erreichte in den Lichtkulturen oft mehr als das zehnfache desjenigen der Kontrolle. Im Dunkel zeigten die anorganischen Kontrollen wie erwartet nur einen unbedeutenden Ertrag, die Glukosekulturen dagegen einen beträchtlichen. Sowohl bei mixo- wie heterotropher Ernährung wurde Chlorophyll gebildet. Die Glukosekulturen hatten jedoch eine blässere Farbe als die anorganischen Kontrollen. Am schlechtesten schien die Glukose von *Chlorella sp.* A und *Ankistrodesmus falcatus* ausgenutzt zu werden.

Galaktose war der Glukose bei mixotropher Ernährung in mehreren Fällen nur unbedeutend unterlegen. *Scenedesmus acuminatus*, *Scenedesmus acutiformis* sowie *Stichococcus bacillaris* haben jedoch Glukose vor Galaktose entschieden vorgezogen. Im Dunkel war Galaktose der Glukose fast durchweg unterlegen. Die Chlorophyllbildung verhielt sich wie oben.

Saccharose hatte in den meisten Fällen keinen oder jedenfalls nur einen unbedeutenden Effekt. Wie grosse Bedeutung ihr in bezug auf die Wirkung auf *Ankistrodesmus falcatus* und *Scenedesmus acuminatus* zuzuschreiben ist, verbleibt unsicher. Dass das Kohlehydrat in gewisser Ausdehnung verwertet werden kann, geht daraus hervor, dass die Dunkelkulturen im Vergleich mit den entsprechenden anorganischen Kontrollen ein nicht unbedeutendes Wachstum gezeigt haben. Hinsichtlich Chlorophyllbildung bestanden keine Unterschiede zwischen den Saccharosekulturen und den Kontrollen.

Maltose stellte sich als eine gute Kohlenstoffquelle bei Mixotrophie heraus, ist jedoch nicht mit Glukose vergleichbar. Bei Heterotrophie scheint sie mitunter schwieriger ausnutzbar zu sein (*Scenedesmus obliquus*, *Scenedesmus quadricauda*). Für *Ankistrodesmus* scheint Maltose besonders günstig zu sein. In bezug auf Chlorophyllbildung gab es keine Unterschiede zwischen den Maltosekulturen und den Kontrollen. — *Scenedesmus acutiformis* zeigte bei heterotropher Ernährung in sämtlichen Fällen ein sehr unbedeutendes Wachstum.

Da Kohlehydrate der gewünschten Qualität zur Zeit der Ausführung von Versuch 10—11 nicht erhältlich waren, mussten in ein paar Fällen einfachere Präparate verwendet werden. Später hatte ich jedoch Gelegenheit, letztere im Vergleich mit solchen von der gewünschten Reinheit zu prüfen.

Tabelle 17. Kohlehydrate als Kohlenstoffquelle (Versuch 11). Anzahl Zellen je mm³.

Beleuchtungsverhältnisse	Licht				Dunkel					
	—	Glukose	Galaktose	Saccharose	Maltose	—	Glukose	Galaktose	Saccharose	Maltose
Kohlehydrat 10 g je l										
<i>Chlorella</i> sp. A	120	260	200	140	270	±	320	230	200	430
	—	430	170	160	340	±	—	240	300	—
<i>Chlorella vulgaris</i> B	3 100	37 000	25 000	2 700	14 000	±	9 100	5 400	380	8 700
	2 900	34 000	22 000	3 400	15 000	±	11 000	5 600	390	7 400
<i>Chlorella vulgaris</i> M	3 100	35 000	41 000	3 400	12 000	±	11 000	4 600	360	7 600
	2 600	41 000	44 000	3 500	13 000	±	9 000	4 500	400	6 300
<i>Ankistrodesmus falcatus</i>	100	700	330	320	2 600	±	570	110	100	610
	160	460	300	390	2 200	±	270	110	60	500
<i>Scenedesmus obliquus</i>	1 700	13 000	9 700	2 300	8 200	±	4 700	2 000	140	540
	2 100	13 000	9 300	2 300	7 600	±	6 100	1 000	130	380
<i>Scenedesmus dimorphus</i>	1 600	9 900	10 000	2 500	15 000	±	4 000	4 800	350	3 500
	1 900	9 100	8 900	2 200	17 000	±	5 600	5 000	230	2 200
<i>Scenedesmus acuminatus</i>	450	9 800	2 900	840	1 600	—	—	—	—	—
	330	9 200	1 600	730	1 530	—	—	—	—	—
<i>Scenedesmus acutiformis</i>	90	1 100	390	130	330	±	±	±	±	±
	90	1 100	460	70	520	±	±	±	±	±
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	830	6 700	5 000	1 100	5 100	±	2 000	690	60	130
	820	6 800	4 700	1 300	5 500	±	2 100	530	100	90
<i>Stichococcus bacillaris</i>	2 200	31 000	9 100	3 400	7 100	±	34 000	440	320	7 600
	2 400	30 000	7 000	3 500	7 700	±	30 000	460	450	6 100

**Tabelle 18. Die Wirkung von Kohlehydraten verschiedener Qualität (Versuch 12).
Chlorella vulgaris B. Anzahl Zellen je mm³.**

Kohlehydrat 10 g je l	Glukose			Galaktose		Saccharose		Maltose	
	S.F.X*	S.F.X* Um- krist.	Kebo puriss.	—	Merck Um- krist.	Merck I	Merck II	—	Um- krist.
Lichtkulturen	36 000	40 000	47 000	45 000	38 000	5 600	5 000	25 000	20 000
	40 000	45 000	40 000	39 000	42 000	6 000	5 600	19 000	17 000
Dunkelkulturen	18 000	13 000	15 000	7 300	6 100	600	810	9 100	6 400
	14 000	14 000	16 000	8 100	4 700	650	850	10 000	5 100

Versuch 12. Kohlehydrate verschiedener Qualität. Lösung A mit pH=6,5. Die unten angegebenen Kohlehydrate wurden sämtlich in der Konzentration von 10 g je l geprüft. Folgende Qualitäten kamen zur Verwendung: 1) Glukose, Schwedische Pharmakopöe, Ed. X (=S.F. X), 2) Glukose, S.F. X, aus Alkohol umkristallisiert, 3) Glukose, puriss., Kebo, 4) Galaktose ohne Firmabezeichnung (vielleicht Merck), 5) Galaktose, Merck, aus Alkohol umkristallisiert, 6) und 7) Saccharose, Merck, zwei Verpackungen (I—II), 8) Maltose ohne Firmabezeichnung, 9) dieselbe Maltose in der Kälte aus Alkohol und Salpetersäure umkristallisiert (PRINGSHEIM und KRÜGER 1932). *Chlorella vulgaris* B. Licht und Dunkel. Tabelle 18 ist eine Zusammenstellung von einigen verschiedenen Versuchen. Ein Vergleich kann daher nur angestellt werden zwischen Kohlehydrate derselben Art aber verschiedener Qualität, dagegen nicht zwischen verschiedenen Arten von Kohlehydraten. Versuchszeit 18—19 Tage. Tabelle 18.

Der Versuch zeigt, dass zwischen den verschiedenen Qualitäten überhaupt keine grösseren Unterschiede vorhanden sind. Die Glukosepräparate sind sowohl im Licht wie im Dunkel gleich gut. Zwischen den Galaktose-, Saccharose- und Maltosepräparaten gibt es bei Mixotrophie keine Unterschiede. Welche Bedeutung man den bei heterotropher Ernährung auftretenden Unterschieden beimessen soll, ist nicht vollkommen klar. Es ist denkbar, dass die Galaktose- und Maltosepräparate einen organischen Wirkstoff enthalten, der sich in der Hauptsache bei heterotropher Ernährung geltend macht und der beim Umkristallisieren ganz oder teilweise entfernt worden ist. Dass Maltosepräparate solche Verunreinigungen enthalten können, ist wohlbekannt (SCHOPFER 1939). Solchenfalls sind die in Versuch 11 mit diesem Kohlehydrat erhaltenen Werte etwas zu hoch. Man beachte das starke Wachstum von *Ankistrodesmus* mit Maltose in Versuch 11! Es braucht

* S.F. X= Schwedische Pharmakopöe, Ed. X.

indessen keine prinzipielle Änderung der früher gezogenen Schlüsssätze vorgenommen zu werden.

Schon BELJERINCK (1890) fand, dass seine *Scenedesmus acutus* und *Chlorella vulgaris* Kohlehydrate verwerten konnten, nämlich Glukose, Maltose und Saccharose. Laut KRÜGER (1894) konnte *Chlorella protothecoides* ihren Bedarf an Kohlenstoff nicht mit Pepton decken. Bei Zusatz von Glukose oder Galaktose wurde dagegen eine gute Entwicklung erhalten. Ein schlechteres Resultat gaben Maltose, Laktose und Dextrin; Saccharose und Inulin waren ganz wertlos. CHICK (1903) fand gleichfalls, dass Glukose nicht durch Saccharose oder Laktose ersetzt werden konnte (*Chlorella pyrenoidosa*). ARTARI (1906) teilt dagegen mit, dass diese beiden Saccharide ausgezeichnete Kohlenstoffquellen sind (*Chlorella communis*). KUFFERATH (1913) fand, dass Kohlehydrate mit sechs oder zwölf Kohlenstoffatomen bei *Chlorella luteoviridis* ein sehr gutes Wachstum zur Folge hatten. Zu ähnlichen Resultaten kam NAKANO (1917) mit *Chlorella vulgaris*. Diese Alge verwertete Glukose, Galaktose, Saccharose, Mannose und Maltose, verschmähte dagegen Laktose. Die übrigen von NAKANO untersuchten Arten zeigten grosse Unterschiede in bezug auf ihr Vermögen, Kohlehydrate zu assimilieren.

Eine systematische Prüfung des Nährwertes mehrerer Kohlehydrate wurde von ROACH (1926) vorgenommen. *Scenedesmus costulatus* diente als Hauptversuchsorganismus. Mit Glukose wurde auch im Dunkeln unter Beibehalten der grünen Farbe ein Wachstum erhalten. Maltose gab ähnliche Resultate. Doch war das Wachstum anfangs verzögert. Mit Glukose konnte keine solche Verspätung beobachtet werden. ROACH zieht hieraus den Schlüsssatz, dass diese Zeit zur Bildung von Maltase erforderlich ist, worauf die Maltose zu Glukose gespaltet werden kann. Galaktose hatte einen fast ebenso hohen Nährwert wie Glukose. Zunächst in der Reihenfolge kamen Saccharose und Fruktose. Weitere vier Grünalgen wurden im Hinsicht auf ihr Verhalten zu Kohlehydraten studiert (ROACH 1927). Der Nährwert der Kohlehydrate wechselte nicht nur von Art zu Art, sondern auch bei ein und derselben Art mit den äusseren Bedingungen.

Eigene Versuche zeigten, dass Glukose, Galaktose und Maltose gute Kohlenstoffquellen sind. Dagegen konnte Saccharose nicht oder nur mit Schwierigkeit ausgenutzt werden. Hierbei mussten besondere Massnahmen ergriffen werden, um eine Hydrolyse der Saccharose bei der Sterilisierung der schwach sauren Lösung zu verhindern.

Diese Fehlerquelle scheint bisher von keinen Algenphysiologen beachtet worden zu sein. Dagegen fand BURSTRÖM (1941), dass Saccharose in Mineralsalzlösungen, die primäres Phosphat enthielten, beim Autoklavieren zu 50 % hydrolytisch gespalten wurde. Maltose war widerstandskräftiger und wurde erst bei niedrigem pH und länger dauerndem Erhitzen gespalten. In welchem Ausmass diese Fehlerquelle die Resultate früherer Arbeiten beeinflusst hat, entzieht sich der Beurteilung.

BURSTRÖM (1941), der mit isolierten Weizenwurzeln arbeitete, fand, dass diese Saccharose nicht verwerten konnten und dass die Zellteilungen im Meristem ausblieben, wenn dieses Kohlehydrat als Kohlenstoffquelle verwendet wurde. Wurden die Lösungen mit Saccharose sowie überdies mit Glukose oder Maltose versetzt, wель letztere beide für sich eine günstige Wirkung zeigten, so kam es gleichfalls zu keinem Wachstum. Saccharose in der Nährlösung wurde schnell invertiert, sodass in dieser reduzierende Zuckerarten auftraten. BURSTRÖM konnte zeigen, dass die Hydrolyse an der Kontaktfläche zwischen Wurzel und Lösung stattfand. Im Zusammenhang mit der schnellen Inversion wurden Nebenprodukte gebildet, die die Wurzeln vergifteten.

Ogleich zwischen BURSTRÖMS und meinem Material erhebliche Unterschiede vorliegen, erschien es verlockend zu untersuchen, wie sich Grünalgen mit Ausgangspunkt von den von BURSTRÖM gemachten Beobachtungen verhalten würden. Es wurde daher folgender Versuch angestellt.

Versuch 13. Saccharose und Glukose als Kohlenstoffquelle bei gleichzeitigem Zusatz. Nährlösung A mit pH 6,5. Die Lösung wurde teils direkt, teils nach Zusatz von 1) Glukose (puriss., Kebo) 10 g je l, 2) Saccharose (Merck) 10 g je l und 3) Glukose 10 g je l + Saccharose 10 g je l verwendet. *Chlorella vulgaris* B. Licht und Dunkel. Versuchszeit 15 Tage. Tabelle 19.

Glukose war wie in früheren Versuchen eine sehr gute Kohlenstoffquelle. Saccharose konnte bei weitem nicht in gleicher Ausdehnung

Tabelle 19. Saccharose und Glukose als Kohlenstoffquelle bei gleichzeitigem Zusatz (Versuch 13). *Chlorella vulgaris* B. Anzahl Zellen je mm³.

Kohlehydrat	—	Glukose	Saccharose	Glukose + Saccharose
Konzentr. in g je l	0	10	10	10 + 10
Lichtkulturen	5 900 6 800	32 000 35 000	6 500 6 200	35 000 35 000
Dunkelkulturen	± ±	14 000 14 000	1 300 780	15 000 14 000

verwertet werden. Bei Mixotrophie macht sich ihre Wirkung überhaupt nicht geltend. Eine Mischung von Glukose und Saccharose gab dasselbe Resultat wie Glukose allein. Die Saccharose hinderte demnach nicht die Aufnahme von Glukose. Andererseits wurde die Saccharose im Laufe des Versuches von den Algen auch nicht gespaltet (Prüfung mit FEHLING-scher Lösung nach 15-tägiger Kultur mit nur Saccharose).

Die Algen verhielten sich gegenüber Saccharose also ganz anders als die Weizenwurzeln. Während man für die letzteren annehmen konnte, dass die Hydrolyse nicht mit der gewöhnlichen, enzymatischen identisch war (BURSTRÖM 1941), scheint es mir wahrscheinlich, dass das Unvermögen der Algen, Saccharose ausnutzen zu können, gerade auf die Abwesenheit eines Enzyms, nämlich Saccharase, zurückzuführen ist.

Das Fehlen von Saccharase hat in bezug auf das Vermögen der Algen, Maltose ausnutzen zu können, eine eigentümliche Konsequenz. Laut neuerer Auffassung ist dieses Enzym nämlich nicht einheitlich, sondern besteht aus sowohl α -Glukosidase wie β -h-Fruktosidase. Saccharose ist ein α -Glukosido- β -h-Fruktosid und kann daher von beiden Enzymen gespaltet werden. Wenn man nun annimmt, dass den Algen das Vermögen fehlt, diese Enzyme zu produzieren, so folgt hieraus, dass das Disaccharid Maltose (Glukose- α -Glukosid), das eine gute Kohlenstoffquelle ist, ohne vorherige Hydrolyse verwertet werden können muss. Das Enzym Maltase ist nämlich mit der oben genannten α -Glukosidase identisch und fehlt daher.

Diese Auffassung steht im Widerspruch mit der von ROACH (1926), die oben S. 175 besprochen worden ist. BURSTRÖM (1941) fand dagegen die Annahme begründet, dass Weizenwurzeln wenigstens teilweise Maltose ohne vorhergehende Hydrolyse verbrauchen.

2. Mehrwertige Alkohole.

Versuch 14. Glycerin und Mannit als Kohlenstoffquelle. Eine Untersuchung des Konzentrationsoptimums (*Chlorella vulgaris* B) zeigte, dass Glycerin (wasserfrei, doppeldestilliert) noch bei 40 g je l wirkungslos war. Mannit wirkte von der Konzentration 5 g je l an schwach hemmend. Mit Ausgangspunkt von diesem Versuch wurden Glycerin und Mannit in den Konzentrationen 10 bzw. 1 g je l verwendet. Es wurden dieselben Arten wie in Versuch 11 geprüft.

Weder Glycerin noch Mannit vermochten den Ertrag bei mixotropher Ernährung zu erhöhen. Bei Heterotrophie zeigten vier Arten ein schwaches Wachstum, die übrigen keines. Da die Zahlen ohne grösseres Interesse sind, werden sie nicht mitgeteilt. Zusammenfassend kann gesagt werden, dass Glycerin und Mannit als Kohlenstoffquellen praktisch wertlos waren.

Mehrwertige Alkohole, die in chemischer Hinsicht den Kohlehydraten nahestehen, sind oft als Kohlenstoffquelle, aber mit sehr wechselndem Resultat, geprüft worden. KRÜGER (1894) fand, dass Mannit für *Chlorella protothecoides* wertlos war, während *Chlorothecium* sich mit demselben Stoff gut entwickelte. Mit Glycerin war das Verhältnis gerade umgekehrt. ARTARI (1906) fand ein mässiges Wachstum von *Chlorella communis* mit Glycerin, Mannit und Erythrit. Dulcitol gab ein schlechteres Resultat. Glycerin war ein guter Nährstoff für *Chlorella luteoviridis* (KUFFERATH 1913); von den hexavalenten Alkoholen wurde im Dunkel Mannit assimiliert. Laut NAKANO (1917) können gewisse Arten Mannit ausnutzen, andere nicht. ROACH (1926) teilt mit, dass Glycerin und Mannit ein schlechteres Wachstum gaben als eine reine Mineralsalzlösung.

3. Organische stickstofffreie Säuren.

Versuch 15. Die Wirkung von Natriumazetat in steigender Konzentration. Von stickstofffreien organischen Säuren wurde nur Essigsäure geprüft. Nährlösung A mit pH 6,5. Natriumazetat (Merck, pro analysi) in den in Tabelle 20 angegebenen Konzentrationen. *Chlorella vulgaris* B. Licht. Versuchszeit 15 Tage. Tabelle 20.

Das Natriumazetat bedingte schon in den niedrigsten Konzentrationen eine erhebliche Zunahme des Ertrages. Bei höherem Gehalt nahm das Wachstum wieder ab. 20 g je l hatten eine deutlich toxische Wirkung.

Versuch 16. Natriumazetat als Kohlenstoffquelle. Nährlösung A, pH=6,5. Natriumazetat in der Konzentration 1 g je l. Licht und Dunkel. Versuchszeit 15 Tage. Tabelle 21.

Für mehrere Arten scheint das Azetat eine sehr gute Kohlenstoffquelle sowohl bei mixo- wie heterotropher Ernährung zu sein. Die Lichtkulturen von *Chlorella* sp. A, *Scenedesmus obliquus* sowie *Stichococcus bacillaris* zeigten jedoch keine Zunahme des Ernteertrages. Auf *Ankistrodesmus*

Tabelle 20. Die Wirkung von Natriumazetat in steigender Konzentration; Licht (Versuch 15). *Chlorella vulgaris* B. Anzahl Zellen je mm³.

Na-Azetat g je l.	0	1	2	5	10	20
Lichtkulturen	3 800 3 800	14 000 14 000	12 000 14 000	8 200 9 800	4 900 6 000	± ±

Tabelle 21. Natriumazetat als Kohlenstoffquelle (Versuch 16). Anzahl Zellen je mm³.

Beleuchtungsverhältnisse	Licht		Dunkel	
	0	1	0	1
<i>Chlorella</i> sp. A	120 —	170 120	± ±	170 140
<i>Chlorella vulgaris</i> B	3 100 2 900	9 300 8 900	± ±	2 300 4 600
<i>Chlorella vulgaris</i> M	3 100 2 600	9 100 20 000	± ±	2 100 2 200
<i>Ankistrodesmus falcatus</i>	100 160	± ±	± ±	± ±
<i>Scenedesmus obliquus</i>	1 700 2 100	2 700 2 400	± ±	900 670
<i>Scenedesmus dimorphus</i>	1 600 1 900	3 500 3 400	± ±	2 100 2 600
<i>Scenedesmus acuminatus</i>	450 330	3 500 3 200	— —	— —
<i>Scenedesmus acutiformis</i>	90 90	320 380	± ±	± ±
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	830 820	3 200 3 500	± ±	710 920
<i>Stichococcus bacillaris</i>	2 200 2 400	2 100 2 200	± ±	120 110

wirkte das Azetat direkt schädlich. Man würde ferner ein besseres Wachstum von *Scenedesmus acutiformis* im Dunkeln erwartet haben. Dieser und spätere Versuche (Tabelle 83 und 88) zeigen, dass das Natriumazetat in seinen Wirkungen häufig etwas unberechenbar ist. Bisweilen kann das Wachstum in einer Azetatkultur ohne wahrnehmbare Ursache zurückbleiben (*Chlorella vulgaris* B, Dunkel, und *Chlorella vulgaris* M, Licht; Tabelle 21).

Der Nährwert organischer Säuren ist vor allem von TREBOUX (1905) zum Gegenstand von Untersuchungen gemacht worden. Dieser Forscher arbeitete nur mit Dunkelkulturen, um die Kohlensäureassimilation auszuschliessen. Von den geprüften Säuren wurden nicht die durch ihre

längeren Kohlenstoffketten den Kohlehydraten näher stehenden Säuren am besten assimiliert, sondern die einfacher gebauten, wie die Essigsäure. Laut NAKANO (1917) war ein Teil der Kulturen von TREBOUX unrein oder nur spezieisrein. Er bezweifelt daher die Richtigkeit der Resultate von TREBOUX. Selbst fand er, dass Oxal-, Äpfel-, Zitronen- und Weinsäure am besten waren. Die Essigsäure war eine schlechte C-Quelle.

Laut PRINGSHEIM (1921 a, 1935 b, 1937) war die Essigsäure die beste oder einzige Kohlenstoffquelle für eine Reihe von chlorophyllführenden oder farblosen Flagellaten.

4. Organische stickstoffhaltige Verbindungen.

Eine organische stickstoffhaltige Verbindung kann teils als Stickstoff-, teils als Kohlenstoffquelle zur Verwendung gelangen. Kann die Substanz eine normale Entwicklung in einer reinen Mineralsalzlösung im Licht ohne Zusatz von weiteren stickstoffhaltigen Verbindungen bedingen, so kann auf ihre Anwendbarkeit als N-Quelle geschlossen werden. Natürlich besteht die Möglichkeit, dass sie gleichzeitig als Kohlenstoffquelle ausgenutzt wird. Verursacht die Substanz Wachstum im Dunkel mit oder ohne Zusatz weiterer N-Verbindungen, so kann hieraus geschlossen werden, dass sie als Kohlenstoffquelle fungieren kann.

Versuch 17. Die Wirkung von Glykokoll, Harnstoff und Pepton in steigender Konzentration. In der Nährlösung A mit pH 6,5 wurde das Kaliumnitrat durch Kaliumchlorid ersetzt. Als Stickstoffquelle wurde zugesetzt: 1) Glykokoll (Merck), 2) Harnstoff (Carbamid puriss., Merck), 3) Pepton (siccum sine sale, Merck). Ausserdem Kontrolle mit Kaliumnitrat anstatt Kaliumchlorid. Die Konzentrationen sind in Tabelle 22 angegeben. Impfung mit *Chlorella vulgaris* B, aufgezogen in Nährlösung B. Vor dem Impfen wurden die Algen abzentrifugiert und mit doppelt destilliertem Wasser unter sterilen Bedingungen gewaschen. Licht. Versuchszeit 15 Tage. Tabelle 22.

Glykokoll hatte in sämtlichen geprüften Konzentrationen gute Wirkung. Dasselbe gilt für Harnstoff, der mit dem Kaliumnitrat gleichgestellt werden kann. 20 g je l wirkten hemmend. Das Wachstum in den Peptonlösungen erinnert in nicht geringem Grad an dasjenige, das mit Saccharose erhalten worden ist (Versuch 10). Auch in diesem Fall besteht Grund zur Vermutung, dass eine in geringer Konzentration vorkommende Verunreinigung (Aminosäure?) für das Wachstum verantwortlich ist, dagegen nicht das Pepton selbst. Erst in der Konzentration 30 g je l wurde derselbe Effekt erhalten wie mit 0,1 g Kaliumnitrat.

Tabelle 22. Die Wirkung von Glykokoll, Harnstoff und Pepton in steigender Konzentration; Licht (Versuch 17). *Chlorella vulgaris* B. Anzahl Zellen je mm³. Die Kontrolle mit 0,1 g KNO₃ je l gab 5 400 bzw. 4 900 Zellen je mm³.

Konzentr. in g je l . . .	1	2	5	10	15	20	30
Glykokoll	3 100 3 000	3 300 5 400	4 100 4 000	3 900 3 500	— —	— —	— —
Harnstoff	5 200 5 000	5 900 5 500	6 100 6 000	5 300 6 900	3 900 4 600	330 110	— —
Pepton	80 160	80 100	— —	1 100 590	2 200 2 100	3 200 3 300	4 700 4 800

Tabelle 23. Organische Stickstoffquelle; Licht (Versuch 18). Anzahl Zellen je mm³.

Stickstoffquelle	KNO ₃	Glykokoll	Alanin	Asparagin	Harnstoff	Pepton
Konzentr. in g je l	0,1	2	2	2	5	2
<i>Chlorella</i> sp. A	490 —	490 400	210 270	300 240	360 380	± ±
<i>Chlorella vulgaris</i> B	5 700 5 700	6 600 6 800	3 200 3 000	2 300 2 200	9 800 8 100	380 400
<i>Chlorella vulgaris</i> M	2 800 2 300	3 400 —	2 800 2 300	2 500 2 200	4 600 4 000	± —
<i>Ankistrodesmus falcatus</i>	130 210	180 230	130 240	± ±	± ±	300 310
<i>Scenedesmus obliquus</i>	2 200 2 600	8 400 7 800	12 000 11 000	2 000 2 600	4 700 5 800	6 000 8 100
<i>Scenedesmus dimorphus</i>	2 100 1 900	1 900 2 400	14 000 12 000	210 170	540 340	7 700 7 000
<i>Scenedesmus acuminatus</i>	1 200 1 200	4 700 5 000	7 200 8 200	550 540	2 000 1 700	3 400 4 000
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	610 480	220 170	1 600 1 500	110 200	420 550	1 500 1 600
<i>Stichococcus bacillaris</i> . . .	590 —	660 —	620 620	520 540	± ±	340 340

Versuch 18. Organische Stickstoffquelle. Als Kontrolle wurde Lösung A mit pH 6,5 benutzt. Die organischen Lösungen enthielten anstatt Kaliumnitrat Kaliumchlorid. Es wurden folgende Stickstoffnährstoffe geprüft: Glykokoll, α -Alanin, Asparagin, sämtliche in der Konzentration 2 g je l, Harnstoff 5 g je l sowie Pepton 2 g je l. Bei dieser niedrigen Peptonkonzentration machen sich ev. Verunreinigungen nicht geltend. Alle Präparate waren vom Fabrikat Merck. Das Impfmateriale wurde wie in Versuch 17 behandelt. Versuchszeit 15 Tage. Licht. Tabelle 23.

Glykokoll kann als Stickstoffquelle dem Nitrat gleichgestellt werden. In ein paar Fällen (*Scenedesmus obliquus* und *Sc. acuminatus*) war es dem Kaliumnitrat indessen überlegen. Nur in einem Fall ergab es einen schlechteren Effekt (*Scenedesmus quadricauda*).

α -Alanin ist eine ausgezeichnete Stickstoffquelle für sämtliche *Scenedesmus*-Arten. Für zwei *Chlorella*-Arten ist es schlechter als Nitrat und Glykokoll, für die übrigen Arten ist es diesem gleichgestellt.

Als überraschend ist zu bezeichnen, dass Asparagin in vielen Fällen ein bedeutend schlechteres Resultat gegeben hat als sowohl Nitrat wie Glykokoll und Alanin. Man würde erwartet haben, dass diese Aminosäure, die im Pflanzenreich so weitverbreitet ist und im Eiweiss-Stoffwechsel der Pflanzen einen zentralen Platz einnimmt, leichter hätte verwertet werden können.

Harnstoff ist eine gute N-Quelle für die *Chlorella*-Arten sowie für ein paar *Scenedesmus*-Arten. Mehrere Arten scheinen jedoch Harnstoff nicht verwerten zu können.

Pepton bildet eine gute Stickstoffquelle für sämtliche *Scenedesmus*-Arten sowie für *Ankistrodesmus*. Da jedoch bekannt ist, dass Pepton Wirkstoffe enthält (ONDRATSCHEK 1940 a, d), muss damit gerechnet werden, dass diese wenigstens teilweise für das gute Ergebnis verantwortlich sind. Die *Chlorella*-Arten scheinen dagegen den Pepton-Stickstoff kaum auszunutzen zu können.

Versuch 19. Organische Stickstoff- und Kohlenstoffquelle. Der Versuch wurde in Übereinstimmung mit dem nächst vorigen angeordnet, aber die Kulturen wurden im Dunkeln untergebracht. Natürlich kann ein Wachstum nur in jenen Fällen erwartet werden, in denen die Substanz als Stickstoffquelle ausgenutzt werden kann. Versuchszeit 15 Tage.

Das Wachstum war durchweg sehr schwach, aber in einigen Fällen der Kontrolle doch deutlich überlegen. Da die Zahlen von geringem Interesse sind, werden sie hier nicht angeführt. Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die geprüften organischen Stickstoffverbindungen als Kohlenstoffquelle ungeeignet oder ganz untauglich sind.

Die Angaben über das Vermögen der Grünalgen, organisch gebundenen Stickstoff auszunutzen, sind ebenso zahlreich wie variierend. Dass

die von BEIJERINCK (1890) reingezüchteten Algen Pepton dem anorganischen Stickstoff vorzogen, ist schon erwähnt worden. KRÜGER (1894) verwendete gleichfalls mit Vorteil Pepton und Asparagin für *Chlorella protothecoides* und *Chlorothecium*. KOSSOWITSCH (1894) erhielt dagegen ein Wachstum nur mit Nitrat, Asparagin war ganz untauglich (*Cystococcus*). Laut ARTARI (1906) waren Glykokoll und Alanin ausgezeichnete Stickstoffquellen für *Chlorella communis*. Ein schlechteres Resultat gaben Asparagin und Harnstoff. Pepton schliesslich bedingte nur ein geringes Wachstum. Auch NAKANO (1917) erhielt mit Pepton ein schlechtes Wachstum. Laut LUDWIG (1938) bilden Azetamid, Harnstoff, Guanidinkarbonat, Harnsäure, verschiedene Aminosäuren sowie Pepton ausgezeichnete Stickstoffquellen für *Chlorella*.

In ein paar Versuchen mit Glykokoll in ungepuffertter Nährlösung fand ich eine ziemlich starke pH-Verschiebung in alkalischer Richtung. Da man vermuten konnte, dass die Algen Aminosäuren unter Abspaltung von Ammoniak verarbeiteten, wurde folgender Versuch angestellt. In einer Nährlösung B (ungepuffert) mit pH 6,5 wurde das Kaliumnitrat durch Kaliumchlorid ersetzt. Als Stickstoffquelle wurde Glykokoll, 2 g je l. verwendet. Die Lösung wurde auf eine Anzahl Erlenmeyerkolben von 150 ml mit 50 ml in jedem Kolben verteilt. Die Kolben wurden mit *Chlorella vulgaris* B sowie mit *Scenedesmus obliquus* geimpft. Einige Kolben verblieben ungeimpft. Nach 16 Tagen wurde das pH der Lösungen bestimmt. In den *Chlorella*-Kulturen betrug das pH 6,7. Die *Scenedesmus*-Kulturen waren stark alkalisch, pH=9,2.

Die Algen wurden abzentrifugiert und die Lösungen mit gleichen Volumen 2,5-n NaOH versetzt und destilliert. Das Destillat wurde über NESSLERS Reagens aufgefangen. Die *Scenedesmus*-Kulturen gaben schon bei schwachem Erwärmen einen deutlich rotbraunen Niederschlag. Bei direktem Zusatz des Reagens zur Kulturflüssigkeit entstand eine rotbraune Farbe sowie kurz darauf eine Trübung, die an Stärke zunahm. Die *Chlorella*-Kulturen gaben dagegen nur mittels Destillation eine positive Reaktion für Ammoniak. Die ungeimpften Lösungen gaben keine Reaktion. Der Versuch zeigt, dass die Aminosäuren unter Abspaltung von Ammoniak ausgenutzt werden, das die Lösung mehr oder weniger stark alkalisch macht. Das Vermögen, Glykokoll zu desaminieren, scheint, auf Grund der pH-Erhöhung und der Ammoniakmengen zu urteilen, bei *Scenedesmus obliquus* bedeutend grösser zu sein als bei *Chlorella vulgaris* B. Dies steht in guter Übereinstimmung mit den in

Versuch 18, Tabelle 23, erhaltenen Resultaten. Für *Scenedesmus obliquus* mit grossem Desaminierungsvermögen bildet Glykokoll eine sehr gute Stickstoffquelle und ist dem Nitrat weit überlegen, für *Chlorella vulgaris* B sind dagegen Glykokoll und Nitrat gleichgestellt. Ein ähnliches Verhalten zeigt Alanin, wogegen das Asparagin den anderen Aminosäuren in beiden Fällen deutlich unterlegen ist.

V. Indolylessigsäure.

Trotzdem Indolylessigsäure (Heteroauxin) von einer ganzen Reihe von Mikroorganismen produziert wird, sind ihre Wirkungen vor allem an höheren Pflanzen studiert worden. BOYSEN JENSEN (1936), OTTE (1937), SCHLENKER (1937), WENT und THIMANN (1937) sowie WENT (1945) haben Zusammenstellungen über die Literatur auf diesem Gebiet veröffentlicht. JANKE (1939) hat eine Übersicht über das Vorkommen und die Wirkungen der Indolylessigsäure auf hauptsächlich heterotrophe Mikroorganismen mitgeteilt. Die Wirkungen auf Algen sind in der Einleitung zu dieser Arbeit behandelt worden. Diese zeigte, dass eine begrenzte Anzahl Untersuchungen mit widersprechenden Resultaten vorliegt.

1. Orientierende Versuche.

Versuch 20. Orientierende Untersuchungen. In diesem Versuch sind zusammengefasst die Wirkungen von Indolyl-3-essigsäure, Indolyl-3-propion-säure, Indolyl-3-buttersäure, Naphthalin-1-essigsäure, Phenylelessigsäure und Phenylpropionsäure auf *Chlorella sp. A* und *Scenedesmus obliquus* als Versuchsorganismen. Die Präparate waren vom Fabrikat Merck, Hoffmann-La Roche, Schuchardt und Kahlbaum. Es wurde Nährlösung C mit einem Anfangs-pH von 6,0 verwendet. Im Verlauf des Versuches kam es zu recht grossen pH-Verschiebungen in den Lösungen. Versuchszeit gewöhnlich 11 Tage. Tabellen 24—26. Abb. 4.

Aus Tabelle 24 und 25 geht hervor, dass die Indolylessigsäure bei beiden Versuchsorganismen eine beträchtliche Ertragssteigerung herbeigeführt hat. Das Optimum für *Chlorella* liegt bei 10—50 mg je l, für *Scenedesmus* bei 0,5

Tabelle 24. Der Einfluss von Indolylessigsäure auf *Chlorella sp. A*. pH=6,0. Orientierende Untersuchung (Versuch 20). Anzahl Zellen je mm³. Versuchszeit 11 Tage.

Indolylessigsäure mg je l . . .	0	1	10	50	100	200
<i>Chlorella sp. A</i>	1 300 1 500	2 300 2 700	3 600 3 800	3 600 3 900	2 200 2 300	1 500 1 500

Tabelle 25. Der Einfluss von Indolylessigsäure u.a. Verbindungen auf *Scenedesmus obliquus*. pH=6,0. Orientierende Untersuchung (Versuch 20; Abb. 4). Anzahl Zellen je mm³. Versuchszeit 11—15 Tage. Die Tabelle ist eine Zusammenstellung mehrerer Versuche.

Konzentr. in mg je l .	0	0,1	0,5	1	5	10	50	100	200
Indolylessigsäure . . .	1 400 1 600	3 000 2 600	4 000 3 400	3 400 2 800	2 800 2 300	2 600 2 200	— —	— —	— —
Indolylpropionsäure .	1 100 1 100	— —	— —	1 100 1 300	— —	1 100 1 300	2 100 2 700	1 300 1 600	1 200 1 000
Indolylbuttersäure . .	1 900 1 700	— —	— —	2 500 2 300	— —	2 900 2 800	2 600 1 800	2 000 1 500	1 100 1 400
Naphthalinessigsäure	4 900 4 500	— —	— —	5 100 5 700	— —	5 600 5 400	6 800 6 700	7 100 7 600	6 500 5 700
Phenylelessigsäure	2 100 2 300	— —	— —	4 200 3 200	— —	4 200 3 800	3 800 3 100	2 600 3 400	2 600 2 400
Phenylpropionsäure .	2 000 1 900	— —	— —	2 500 2 500	— —	2 700 2 800	2 500 1 800	2 100 1 600	1 500 1 200

Tabelle 26. Der Einfluss von Indolylessigsäure auf *Scenedesmus obliquus*. pH=6,0. Orientierende Untersuchung (Versuch 20). Anzahl Zellen je mm³. Versuchszeit 11 Tage.

Indolylessigsäure mg je l	0	1	10	50	100	200
<i>Scenedesmus obliquus</i>	1 300 1 300	1 400 1 300	1 300 1 500	1 100 1 200	1 100 1 200	700 800

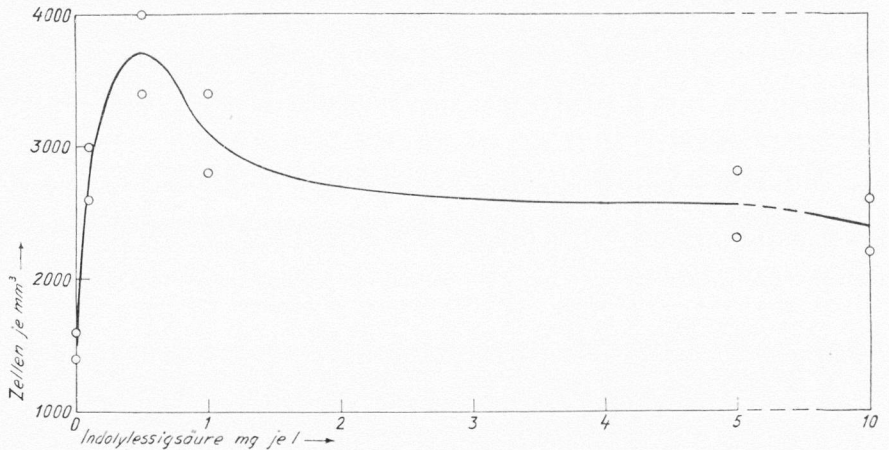


Abb. 4. Die Wirkung verschiedener Konzentrationen von Indolylessigsäure (pH = 6) auf das Wachstum von *Scenedesmus obliquus*. Die Abszisse gibt die Konzentration in mg je l, die Ordinate den Ertrag in Anzahl Zellen je mm³ an (Versuch 20, Tabelle 25).

—1 mg (Abb. 4). Es soll indessen nicht verschwiegen werden, dass die vermehrungsfördernde Wirkung in anderen Versuchen anscheinend ganz ohne Ursache vollständig ausbleiben konnte. Besonders *Chlorella sp. A* war in dieser Hinsicht unberechenbar. Aber auch bei *Scenedesmus* waren solche Unregelmässigkeiten nichts seltenes (Tabelle 26). Die Indolylessigsäure war den übrigen Verbindungen im allgemeinen etwas überlegen, was aus Tabelle 25 hervorgeht, die eine Zusammenstellung mehrerer Versuche enthält. Trotz der Unregelmässigkeiten im Wachstum schien mir eine nähere Untersuchung über die Wirkung von Indolylessigsäure auf Algen berechtigt.

2. Das Konzentrationsgebiet.

Versuch 21. Die Wirkung von Indolylessigsäure in steigender Konzentration; pH=7,0. Nährlösung B wurde mit Indolyl-3-essigsäure in den in Tabelle 27 angegebenen Konzentrationen versetzt. Um den Algen etwas günstigere Bedingungen als in den orientierenden Versuchen darzubieten, wurde das pH auf 7,0 eingestellt. *Chlorella sp. A* und *Scenedesmus obliquus*, die schon früher untersucht worden sind, wurden in diesem Versuch nicht geprüft. Versuchszeit 15 Tage. Tabelle 27.

Die stärksten Lösungen nahmen im Lauf von einigen Tagen eine gelbe Farbe an, die bis zu Ende des Versuches unverändert beibehalten

Tabelle 27. Die Wirkung von Indolylessigsäure in steigender Konzentration, pH=7,0 (Versuch 21). Anzahl Zellen je mm³.

Indolylessigsäure mg je l	0	0,1	1	10	50	100
<i>Chlorella vulgaris</i> B	9 500	8 000	8 200	4 100	670	260
	9 600	7 800	8 000	4 400	450	230
<i>Chlorella vulgaris</i> M	4 900	3 100	1 100	180	±	±
	8 100	3 200	910	660	±	±
<i>Ankistrodesmus falcatus</i>	180	150	100	110	±	±
	170	170	120	120	±	±
<i>Scenedesmus dimorphus</i>	2 500	2 600	2 700	2 300	3 900	1 100
	2 300	2 100	2 600	2 300	2 800	1 700
<i>Scenedesmus acuminatus</i>	780	400	170	±	±	±
	830	650	140	±	±	±
<i>Scenedesmus acutiformis</i>	100	70	90	±	±	±
	140	90	90	±	±	±
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	2 100	2 000	2 000	890	820	780
	2 000	1 700	2 000	1 300	1 200	520
<i>Stichococcus bacillaris</i>	1 900	1 500	1 300	130	±	±
	1 900	1 500	1 200	660	±	±

wurde. Aus dem Versuch kann unmittelbar geschlossen werden, dass Indolylessigsäure in niedriger Konzentration, 0,1 mg je l, ohne Wirkung ist, sowie, dass sich mit erhöhter Konzentration eine Giftwirkung geltend macht. In ein paar Fällen traten die Hemmungen schon in der niedrigsten Konzentration auf.

Der Versuch steht demnach in schlechter Übereinstimmung mit früheren Untersuchungen, die in Versuch 20 zusammengefasst sind. Auch in diesen blieb jedoch, wie schon vorstehend erwähnt, die vermehrungsfördernde Wirkung zuweilen ohne sichtliche Ursache aus. Es muss indessen damit gerechnet werden, dass der in Versuch 21 ausgebliebene Effekt durch die veränderten Milieubedingungen verursacht sein kann. Der auffallendste Unterschied zwischen den orientierenden Untersuchungen und Versuch 21 ist die Veränderung des Anfangs-pH von 6,0 zu 7,0. Ausserdem trat in Versuch 21 eine Gelbfärbung der stärksten Lösungen im Verlauf des Versuches auf. Präliminare Untersuchungen zeigten, dass die Farbenveränderung mit der Beleuchtungsintensität und der Länge der Versuchszeit im Zusammenhang stand. Die orientierenden Versuche wurden während der Herbstmonate mit Tagen von geringer Lichtintensität ausgeführt. Versuch 21 wurde im Frühjahr mit klaren Tagen ausgeführt. Ausserdem wurde nachts während einiger Stunden ein extra Lichtzuschuss mit elektrischer Beleuchtung gegeben. Dies war der nächstliegende Grund, weshalb in früheren Versuchen keine Farbenveränderung beobachtet worden ist. Im Hinblick darauf, dass die ausgebliebene Wirkung irgendwie mit den geänderten Versuchsbedingungen im Zusammenhang stand, wurden zwei neue Versuche angestellt.

Der eine von diesen wurde bei pH=4,3, aber im übrigen wie Versuch 21 durchgeführt. Schon nach zwei Tagen kam es in den beiden höchsten Konzentrationen zu einer starken Farbenveränderung zu rotbraun und es entstand ein gleichfalls rotbrauner Niederschlag. Noch nach 14 Tagen gab es kein oder nur ein so unbedeutendes Wachstum, dass sich seine Bestimmung nicht lohnte. Das ausgebliebene Wachstum muss einem allzu ungünstigen pH zugeschrieben werden. Der zweite Versuch soll eingehender beschrieben werden.

Versuch 22. Die Wirkung von Indolylessigsäure in steigender Konzentration; pH=6,0. Zur Stabilisierung des pH wurden Pufferlösungen eingeführt. Nährlösung A mit pH 6,0. Indolylessigsäure in gleichen Konzentrationen wie in Versuch 21. Die Beleuchtung war in diesem Fall viel schwächer als in Versuch 21 (Fenster gegen Norden). Das Wachstum wurde durch tägliche Beobachtungen verfolgt. Gleiche Versuchsorganismen wie in Versuch 21, sowie überdies *Scenedesmus obliquus*. Der Versuch wurde später durch eine ähnliche

Tabelle 28. Die Wirkung von Indolylessigsäure in steigender Konzentration, pH=6,0 (Versuch 22). Anzahl Zellen je mm³. *Chlorella sp. A* wurde bei anderen Licht- und Temperaturverhältnissen geprüft als die übrigen Algen.

Indolylessigsäure mg je l	0	0,1	1	10	50	100
<i>Chlorella sp. A</i>	1 200	—	2 700	—	3 400	—
<i>Chlorella vulgaris B</i>	840	2 600	2 700	1 300	1 100	760
	730	2 600	2 300	1 500	960	870
<i>Chlorella vulgaris M</i>	1 600	1 600	860	150	±	±
	2 000	—	780	150	±	±
<i>Ankistrodesmus falcatus</i>	110	170	180	110	±	±
	150	220	160	70	±	±
<i>Scenedesmus obliquus</i>	760	1 200	1 300	1 300	800	470
	800	1 100	1 200	1 300	640	520
<i>Scenedesmus dimorphus</i>	940	940	1 000	950	810	750
	880	1 100	1 300	880	870	620
<i>Scenedesmus acuminatus</i>	560	610	640	±	±	±
	560	570	480	±	±	±
<i>Scenedesmus acutiformis</i>	60	90	100	±	±	±
	70	90	—	±	±	±
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	420	460	480	290	170	210
	400	400	420	440	130	170
<i>Stichococcus bacillaris</i>	700	820	1 100	80	±	±
	1 000	1 100	1 100	70	±	±

Untersuchung mit *Chlorella sp. A* ergänzt. Die hierbei erhaltenen Werte sind gleichfalls in der Tabelle aufgenommen. Nach sieben Tagen, wo für *Chlorella vulgaris B* und *Scenedesmus obliquus* deutliche Unterschiede festgestellt werden konnten, wurden diese ausgezählt. Die übrigen wurden am folgenden Tag fixiert. Tabelle 28.

Am Ende der Versuchszeit konnten in den Lösungen keine Farbveränderungen beobachtet werden. Die Tabelle zeigt, dass drei der Algen auf Indolylessigsäure positiv reagiert haben, nämlich *Chlorella sp. A*, *Chlorella vulgaris B* sowie *Scenedesmus obliquus*. Die erste von diesen wurde hier nur in den Konzentrationen 1 und 50 mg je l geprüft. In beiden zeigte Indolylessigsäure positive Wirkung. Am stärksten war der Effekt in der höchsten Konzentration. *Chlorella vulgaris B*, die früher mit negativem Ergebnis geprüft worden war, gab hier einen Ernteertrag, der dreimal so gross als der der Kontrolle war. Die höchste Konzentration, 100 mg je l, wirkte hier nicht hemmend. Vgl. Versuch 21. *Scenedesmus obliquus* schliesslich gab den grössten Ertrag bei 0,1—10 mg je l. Auf die übrigen Arten hatte Indolylessigsäure dagegen keine vermehrungsanregende

Wirkung. Es ist jedoch zu beachten, dass die hemmende Wirkung der Indolylessigsäure in diesem Versuch bei einer höheren Konzentration auftritt als in Versuch 21.

Besondere Aufmerksamkeit erheischt *Chlorella vulgaris* B, die in Versuch 21 und 22 sich so verschieden verhalten hat. In Versuch 21 sind folgende Veränderungen der Versuchsbedingungen vorgenommen worden: 1) Das pH wurde mit einer Einheit von 7,0 auf 6,0 gesenkt. Im letzteren Fall wurde überdies eine Pufferlösung benutzt. 2) Die Versuchszeit wurde von 15 auf 7 Tage verkürzt. 3) Die Beleuchtungsintensität war in Versuch 22 bedeutend schwächer als in Versuch 21. Mit den beiden letzten Veränderungen hängt der Umstand zusammen, dass die stärksten Lösungen in Versuch 21 gelb gefärbt waren, während die entsprechenden Lösungen in Versuch 22 noch am Ende der Versuchszeit farblos verblieben. Die nächste Aufgabe war, zu prüfen, welche Bedeutung diese Veränderungen für die Wirkung der Indolylessigsäure haben konnten.

3. Die Bedeutung des pH. Die Versuchszeit.

Versuch 23. Die Wirkung von Indolylessigsäure bei verschiedenem pH. Folgende Lösungen wurden zubereitet: I. Nährlösung A mit pH 1) 5,0, 2) 6,0

Tabelle 29. Die Wirkung von Indolylessigsäure bei verschiedenem pH (Versuch 23; Abb. 5 und 6). Anzahl Zellen je mm³ sowie pH am Ende des Versuches.

Kultur-Nr.	Anzahl Zellen je mm ³			pH-Verschiebungen		
	1	2	3	1	2	3
Anfangs-pH	5,0	6,0	7,0	5,0	6,0	7,0
<i>Chlorella vulgaris</i> B						
Kontrolle ohne Indolylessigsäure ...	170	620	2 900	5,3	6,0	7,1
	240	620	3 000	5,3	6,0	7,1
Indolylessigsäure 1 mg je l	710	650	2 200	5,5	6,0	7,1
	730	1 100	2 400	5,6	6,1	7,0
Indolylessigsäure 10 mg je l	370	1 300	2 000	5,4	6,2	7,0
	350	1 100	2 200	5,4	6,1	7,1
<i>Scenedesmus obliquus</i>						
Kontrolle ohne Indolylessigsäure ...	160	290	1 200	5,3	6,0	7,1
	260	280	1 200	5,2	6,0	7,1
Indolylessigsäure 1 mg je l	640	570	1 200	5,4	6,1	7,1
	680	850	1 400	5,5	6,1	7,1
Indolylessigsäure 10 mg je l	380	540	860	5,5	6,1	7,0
	550	1 000	1 400	5,4	6,1	7,1

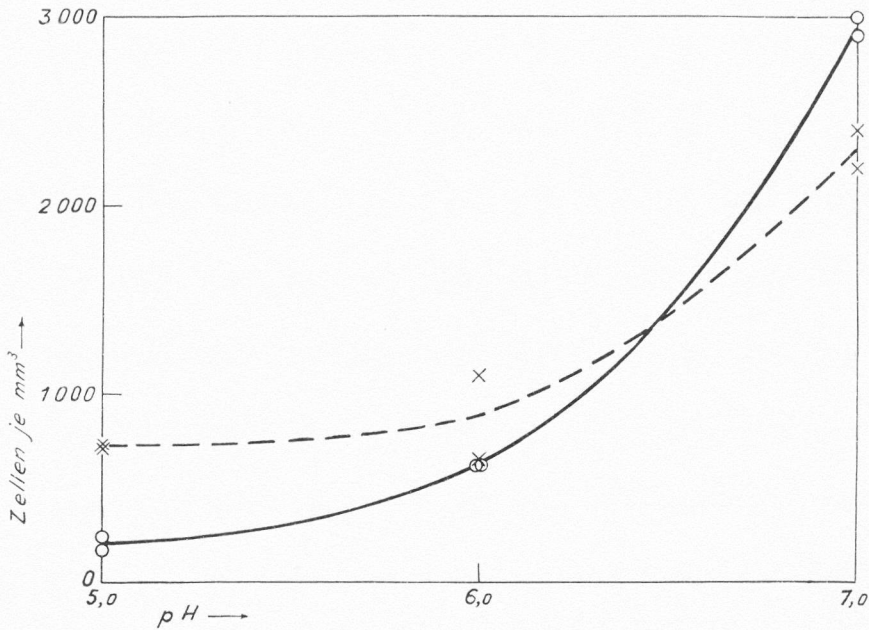


Abb. 5. Die Wirkung von Indolyllessigsäure auf das Wachstum von *Chlorella vulgaris* B bei verschiedenem pH. Die Abszisse gibt das pH, die Ordinate den Ertrag in Anzahl Zellen je mm³ an. Die voll ausgezogene Linie entspricht dem Ertrag in der indolyllessigsäurefreien Kontrolle, die gestrichelte Linie dem Ertrag in einer Lösung mit 1 mg Indolyllessigsäure je l (Versuch 23, Tabelle 29).

und 3) 7,0. II. Gleiche Lösungen wie unter I, aber mit Indolyllessigsäure in der Konzentration 1 mg je l. III. Gleiche Lösungen wie unter I, aber mit Indolyllessigsäure in der Konzentration 10 mg je l. Die Lösungen wurden mit *Chlorella vulgaris* B sowie *Scenedesmus obliquus* geimpft und in ein Fenster gegen Norden gestellt. Das Wachstum wurde durch tägliche Beobachtungen verfolgt. Versuchszeit 10 Tage. Tabelle 29. Abb. 5—6.

Abbildung 5 und Tabelle 29 zeigen, dass das Wachstum von *Chlorella* in den Heteroauxinlösungen demjenigen in der Kontrolle erheblich überlegen ist, wenn die Lösung saure Reaktion aufweist. Die Kurven konvergieren gegen den Neutralpunkt und schneiden sich ungefähr bei pH=6,5. Ähnlich verhält sich *Scenedesmus*. Hier scheinen die Kurven sich indessen beim oder über dem Neutralpunkt zu schneiden (Abb. 6).

Zu beachten sind die pH-Verschiebungen, die im Verlauf des Versuches besonders in der sauersten Lösung stattfinden, wo die Puffer-

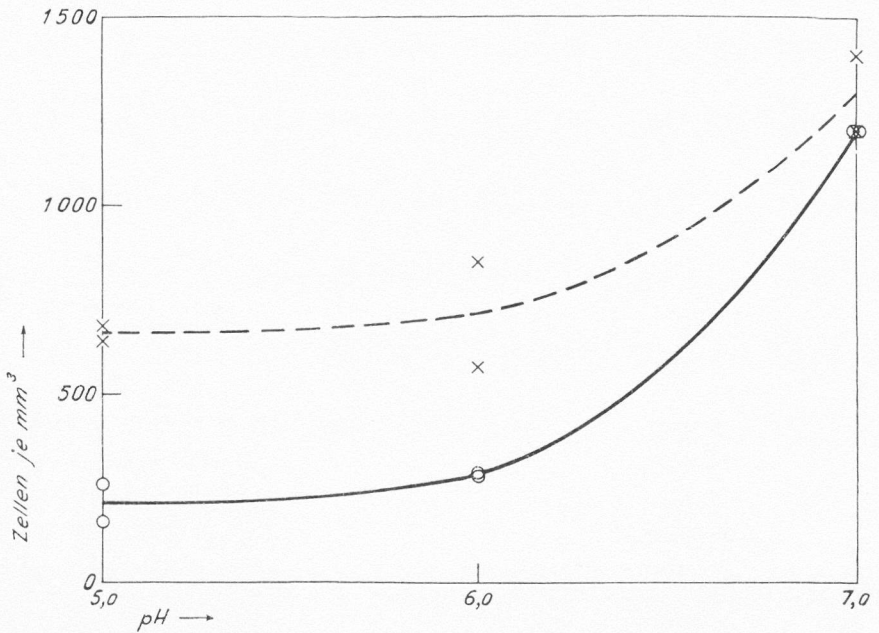


Abb. 6. Die Wirkung von Indolylessigsäure auf das Wachstum von *Scenedesmus obliquus* bei verschiedenem pH. Die Abszisse gibt das pH, die Ordinate den Ertrag in Anzahl Zellen je mm³ an. Die voll ausgezogene Linie entspricht dem Ertrag in der indolylessigsäurefreien Kontrolle, die gestrichelte Linie dem Ertrag in einer Lösung mit 1 mg Indolylessigsäure je l (Versuch 23, Tabelle 29).

kapazität am kleinsten ist. Wegen der kurzen Versuchszeit sind sie jedoch nicht so gross wie z.B. in Versuch 7.

Die Wirkungen der Indolylessigsäure kommen also erst bei saurer Reaktion zur Geltung. Dies ist eine der Ursachen der verschiedenen Resultate in den Versuchen 21 und 22. Dass es auch andere Ursachen gibt, zeigt der folgende Versuch.

Versuch 24. Der Wachstumsverlauf bei Anwesenheit von Indolylessigsäure. Nährlösung A mit pH 5,0 mit oder ohne Indolylessigsäure (Konzentration 1 mg je l). Es wurde eine grössere Anzahl Kulturen in Ordnung gestellt. Proben wurden zu den in Tabelle 30 angegebenen Zeitpunkten entnommen und ausgezählt. Elektrische Beleuchtung. Versuchsorganismus *Chlorella vulgaris* B.

Tabelle 30 und Abbildung 7 zeigen, dass die Algen in Heteroauxinlösung während der ersten 8 Tage eine grössere Vermehrungsgeschwindigkeit haben als in der Kontrolle. Nach dieser Zeit verringert sich der Zuwachs in der Heteroauxinlösung, und die Unterschiede nehmen mehr und mehr ab. Am dreizehnten Tag schneiden sich die Kurven. Während

Tabelle 30. Der Wachstumsverlauf bei Anwesenheit von Indolylessigsäure (Versuch 24; Abb. 7). *Chlorella vulgaris* B. Anzahl Zellen je mm³.

Anzahl Tage	3	5	7	9	11	13	15	17	19	21
Kontrolle ohne Indolylessigsäure	510	510	1 400	2 000	2 700	3 700	5 500	6 300	7 200	7 900
Indolylessigsäure 1 mg je l	—	520	1 600	2 200	2 900	3 700	5 400	6 100	6 600	6 700
Indolylessigsäure 1 mg je l	540	910	3 500	3 200	3 700	3 800	4 000	4 500	4 500	4 800
—	—	840	3 100	3 400	3 900	3 900	4 100	4 300	4 600	4 600

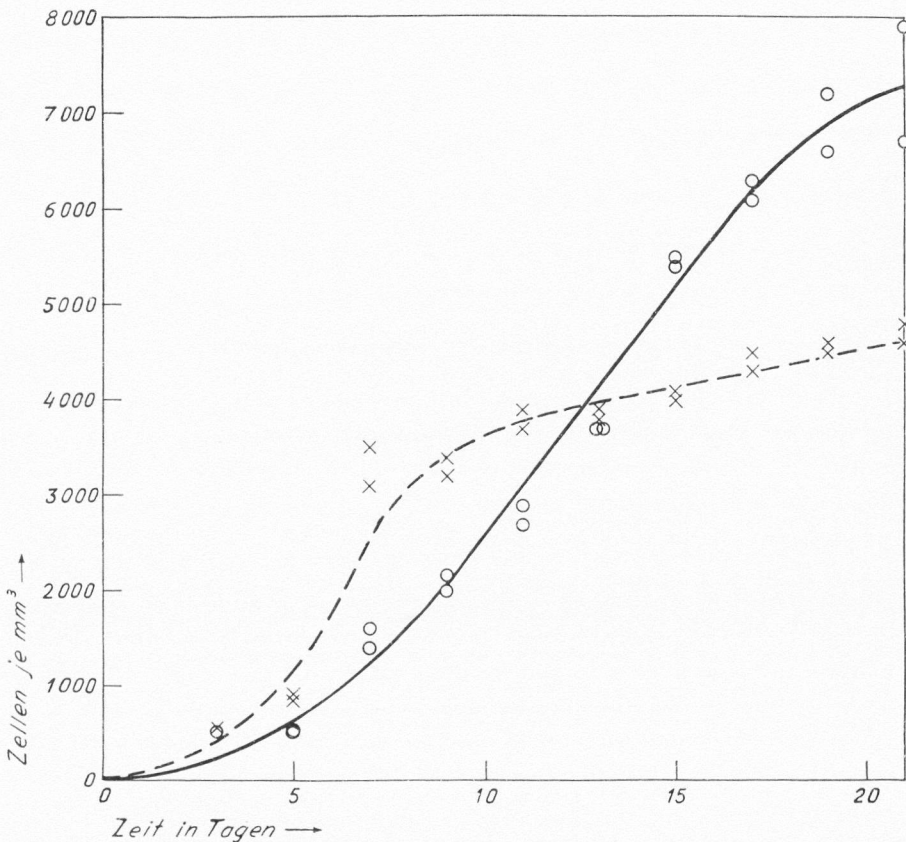


Abb. 7. Der Wachstumsverlauf bei Anwesenheit von Indolylessigsäure. Die Abszisse gibt die Zeit in Tagen, die Ordinate das Wachstum in Anzahl Zellen je mm³ an. Die voll ausgezogene Linie entspricht dem Wachstum in der indolylessigsäurefreien Kontrolle, die gestrichelte Linie dem Wachstum in einer Lösung mit 1 mg Indolylessigsäure je l (Versuch 24, Tabelle 30).

die Vermehrung in der Kontrolle von diesem Zeitpunkt an mit unverminderter Geschwindigkeit fortgeht, ist sie in der Heteroauxinlösung nun sehr langsam. Nach 21 Tagen ist die Kontrolle dieser weitaus überlegen. Der Versuch wurde (bei Tageslicht und im Fenster gegen Norden) mit demselben Ergebnis wiederholt. Die Unterschiede kulminierten am achten Tag, am vierzehnten Tag schnitten sich die Kurven.

Der zu Beginn wachstumsstimulierende Effekt der Indolylessigsäure wurde also im Verlauf des Versuches zu einer hemmenden Wirkung. Es wurde die Arbeitshypothese aufgestellt, dass die Hemmung auf in der Lösung gebildete Zerfallsprodukte der Indolylessigsäure zurückzuführen ist. Bei höherer Konzentration, 100 mg je l, geben sich diese durch gelbe bis braune Farbe zu erkennen. Ihr Vorkommen muss auch in stark verdünnten Lösungen angenommen werden, wenn sie auch wegen ihrer geringen Konzentration in solchen nicht direkt beobachtet werden können. Bevor eine Untersuchung über die Wirkungen der Zerfallsprodukte begonnen wurde, war es indessen angezeigt, die Bedingungen kennen zu lernen, unter denen diese Produkte gebildet werden.

4. Die Stabilität der Indolylessigsäure.

Die Indolylessigsäure wurde das erstemal von SALKOWSKI (1885 a, b) isoliert. Von SALKOWSKI stammt auch das erste Reagens auf diese Säure. Wird eine wässrige Lösung von Indolylessigsäure mit konz. Salzsäure und darauf mit einigen Tropfen Ferrichloridlösung versetzt, so entsteht beim Kochen eine kirschrote Farbe. Empfindlichkeit 1 : 100 000. Bei sehr kleinen Mengen Indolylessigsäure ist die Farbe violett. Der rote Farbstoff ist im Amylalkohol löslich. Absorption im grünen Teil des Spektrums. Aus gewissen Unterschieden in den Löslichkeitsverhältnissen in Essigäther zog SALKOWSKI die Schlussfolgerung, dass der Farbstoff keine einheitliche chemische Substanz darstellt. Vielleicht handelt es sich um eine Serie nahe verwandter Farbstoffe. Hierfür spricht auch der Umstand, dass Indolylessigsäure bei verschiedener Konzentration verschiedene Nuancen gibt. Da gleiche oder ähnliche Farbstoffe auch mit anderen schwachen Oxydationsmitteln erhalten werden können, zog SALKOWSKI die Schlussfolgerung, dass es sich um eine Oxydation der Indolylessigsäure handelte. Eigene Versuche haben die von SALKOWSKI gemachten Beobachtungen bestätigt. Die kirschrote Farbe kann jedoch je nach der Darstellungsweise sehr verschiedene

Nuancen aufweisen. So war die Farbe vom Zeitpunkt des Zusatzes des Oxydationsmittels (vor, während oder nach dem Kochen) sowie von der Dauer des Erhitzens abhängig. Eine Lösung, die gleich vor dem Kochpunkt eine violettrote Farbe zeigte, war nach einer Weile Kochen orangerot. Sämtliche Farbstoffe zeigten Absorption im Grünen.

Ein anderes qualitatives Reagens auf Indolylessigsäure wurde von HERTER (1908) entdeckt. Wenn eine Lösung der Säure mit p-Dimethylaminobenzaldehyd + Salzsäure versetzt wird, so resultiert eine rotviolette Farbe. Diese Reaktion unterscheidet sich von der ähnlichen Indolreaktion durch geringere Empfindlichkeit und eine andere Nuance des Farbstoffes. Die von HERTER gegebene Beschreibung ist sehr kurz gehalten.

Eigene Versuche zeigten folgendes. Wenn Indolylessigsäure (0,1 g je l) mit einem gleichen Volumen p-Dimethylaminobenzaldehyd (s. u.) erhitzt wurde, resultierte beim Kochen eine rotviolette Farbe. Beim Abkühlen wurde die Farbe erheblich schwächer, um bei erneuertem Erhitzen wiederzukehren. Diese Prozedur scheint beliebig oft wiederholt werden zu können. Bei Zusatz einer grösseren Menge Salzsäure wurde die Farbe etwas intensiviert. Wenn Alkohol statt HCl als Lösungsmittel für den Aldehyd verwendet wurde, so verhielt sich das Reagens in gleicher Weise.

Für die weiteren Untersuchungen über die Stabilität der Indolylessigsäure war es wünschenswert, eine Farbreaktion zu finden, die quantitativ verwendet werden konnte. HERTERS Reaktion erschien hierfür wenig geeignet, da sie ziemlich unempfindlich war und da die Intensität der Farbe von der Temperatur der Lösung abhängig war. SALKOWSKIS Reaktion zeigte grosse Empfindlichkeit, aber Lösungen von verschiedener Konzentration gaben verschiedene Nuancen. Auch Lösungen derselben Konzentration gaben, wenn sie nach einem standardisierten Schema behandelt wurden, häufig Farbenunterschiede, die eine kolorimetrische Bestimmung erschwerten oder unmöglich machten.

Beim Suchen nach einer Methode zur quantitativen Bestimmung von Indolylessigsäure wurde indessen eine neue Reaktion mit dieser Säure entdeckt. Wenn eine Indolylessigsäurelösung nach HERTER behandelt und darauf mit Ferrichlorid versetzt wird, entsteht eine intensiv violette Färbung. Die Reaktion erinnert insofern an die von SALKOWSKI, als man mit verschiedenen Konzentrationen etwas verschiedene Nuancen erhält. Beim Schütteln der Lösung mit Butylalkohol wird der Farbstoff vom Alkohol aufgenommen, und die farblose Wasserphase enthält Ferroionen. Das Ferrichlorid hat demnach den bei der HERTERSchen Reak-

tion gebildeten rotvioletten Farbstoff oxydiert. Mit Hinsicht auf sein Absorptionsspektrum erinnerte der neue Farbstoff am meisten an den nach HERTER erhaltenen. Beide diese zeigen nämlich Absorption im Gelben mit einem scharfen Rand gegen Rot und eine Vertonung gegen Grün. Der nach SALKOWSKI erhaltene Farbstoff absorbiert dagegen im Grünen. Die Farbenintensität war von der Temperatur der Lösung unabhängig. Vgl. HERTERS Reaktion oben.

Die entscheidende Frage war, ob dieser Farbstoff — wenigstens innerhalb eines begrenzten Konzentrationsgebietes — zur quantitativen Bestimmung von Indolylessigsäure verwendet werden konnte. Auf Grund der gemachten Erfahrungen wurde folgende Methode zur kolorimetrischen Bestimmung von Indolylessigsäure ausgearbeitet.

5 ml Indolylessigsäurelösung wird mit 5 ml p-Dimethylaminobenzaldehyd-Reagens (2 g Aldehyd + 10 ml konz. Salzsäure + 100 ml Wasser) versetzt und 10 Minuten am Wasserbad erwärmt (in einem 50 ml Erlenmeyerkolben, der hängend in Wasser eingetaucht ist). Die Lösung nimmt eine rotviolette Farbe an. Sie wird abgekühlt, wobei die Farbe schwächer wird, sowie darauf mit 1 ml konz. Salzsäure (die Farbe wird wieder etwas intensiver) und mit 4—5 Tropfen 0,5 %-iger Ferrichloridlösung versetzt. Erwärmen wie früher während 15 Minuten am Wasserbad. Es resultiert eine stark violette Farbe. Nach dem Abkühlen wird das Volumen für die verdunstete Menge korrigiert. Die Menge des gebildeten Farbstoffes ist der Konzentration der Indolylessigsäure proportional. Die Lösung wird im Verhältnis zu einer Lösung bekannter Konzentration (Standardlösung) kolorimetriert, die in gleicher Weise und gleichzeitig wie die Probe selbst behandelt worden ist. Geringere Unterschiede in der Behandlung können nämlich zur Folge haben, dass die Reaktion nicht bis zum Schlussstadium abläuft, wodurch Unterschiede in der Farbnuance erhalten werden.

Die Methode kann nur verwendet werden, wenn der Unterschied in der Konzentration zwischen der Probe und der Standardlösung klein ist (s. Tabelle 31). Sind die Unterschiede gross, so orientiert man sich über die ungefähre Konzentration der unbekanntenen Lösung durch eine qualitative Probe und wählt die Stärke der Standardlösung im Hinblick hierauf. Die Methode ist herab bis zu einer Konzentration von 5 mg je l verwendbar.

5 mg Aldehydreagens + 5 mg Aq. dest. + 1 ml konz. Salzsäure sollen eine vollkommen farblose Lösung geben. Dies war mit einem Aldehydpräparat vom Fabrikat Merck der Fall. Ein anderes Präparat gab eine gelb gefärbte Lösung, die vor der Verwendung mit Tierkohle entfärbt werden musste.

10 Bestimmungen einer Lösung von 0,100 g Indolylessigsäure je l gaben folgende Resultate: 0,097; 0,100; 0,097; 0,100; 0,100; 0,098; 0,104:

Tabelle 31. Quantitative Bestimmung von Indolylessigsäure. Die Zahlen geben Indolylessigsäure in g je l Lösung an.

Lösung	Standard-	Probe	Standard-	Probe	Standard-	Probe	Standard-	Probe	Standard-	Probe
	lösung		lösung		lösung		lösung		lösung	
Wirkliche Konzentr. . .	0,100	0,100	0,050	0,050	0,020	0,020	0,010	0,010	0,005	0,005
Gefundene » ..		0,102		0,050		0,020		0,010		0,005
Wirkliche » ..	0,100	0,060	0,080	0,060	0,060	0,060	0,050	0,060	—	—
Gefundene » ..		0,056		0,056		0,060		0,063		—
Wirkliche » ..	0,050	0,040	0,040	0,040	—	—	—	—	—	—
Gefundene » ..		0,038		0,040		—		—		—
Wirkliche » ..	0,050	0,020	0,040	0,020	0,020	0,020	—	—	—	—
Gefundene » ..		0,019		0,020		0,020		—		—

0,102; 0,103; 0,098. Der Mittelwert betrug $0,100 \pm 0,0008$ g je l. Die Dispersion war 0,0025 und der Variationskoeffizient 2,5 ‰.

Tabelle 31 enthält eine Serie von Bestimmungen, bei denen einerseits die Standardlösung und die »unbekannte« Probe dieselbe Konzentration gehabt haben, andererseits die Konzentration der Probe konstant gehalten und die der Standardlösung variiert wurde. Wie aus der Tabelle hervorgeht, werden die besten Resultate erzielt, wenn Standardlösung und Probe gleiche oder fast gleiche Konzentration haben.

Es wäre natürlich wünschenswert gewesen, die Stabilität der Indolylessigsäure in direktem Anschluss an einen physiologischen Versuch zu untersuchen. Da indessen die quantitative Methode keine Bestimmungen unter 0,005 g je l zulässt, mussten diese Pläne aufgegeben werden. Statt dessen musste ich mich mit einer allgemeinen Orientierung über die Stabilität bei verschiedenen Bedingungen begnügen.

Versuch 25. Die Stabilität der Indolylessigsäure. Nährlösung A mit pH 5,0 wurde mit Indolylessigsäure in der Konzentration 0,1 g je l versetzt. Die Lösung wurde in zwei Hälften geteilt, von denen die eine in das Licht, die andere in das Dunkel gestellt wurde. Eine andere Nährlösung A mit pH 7,0 wurde mit Indolylessigsäure zur gleichen Konzentration wie oben versetzt und gleichfalls in Licht und Dunkel gestellt. Nach 10 Tagen wurde die Konzentration der Indolylessigsäure nach der oben angegebenen Methode bestimmt. Es zeigte sich hierbei, dass die Farbstoffe, die beim Zerfall der Indolylessigsäure während der Versuchszeit entstehen, die Kolorimetrierung störten. Es wurden einige Versuche zur Entfernung derselben durch Ausschütteln mittels organischen Lösungsmitteln gemacht. Dies gelang indessen nicht. Schliesslich wurde in folgender Weise verfahren. Die fertigbehandelte Standardlösung (A) wurde

Tabelle 32. Die Stabilität der Indolylessigsäure (Versuch 25). Die Zahlen geben Indolylessigsäure in g je l Lösung an.

pH	5,0		7,0	
	Licht	Dunkel	Licht	Dunkel
Indolylessigsäure nach 0 Tagen	0,100	0,100	0,100	0,100
» » 10 »	0,052	0,088	0,065	0,101
Farbe d. Lösung » 10 »	rotbraun (Nieder- schlag)	farblos	gelb	farblos

vor dem Kolorimetrieren mit 5 ml der gelben unbehandelten Indolylessigsäurelösung (=die unbehandelte, unbekannte Probe, B) versetzt. Die fertigbehandelte Probe (5 ml der Lösung B+das Aldehydreagens enthaltend) wurde vor dem Kolorimetrieren mit 5 ml Aq. dest. versetzt. Die folgende kolorimetrische Bestimmung konnte ohne oder nur mit unbedeutenden Störungen durchgeführt werden. Tabelle 32.

Aus Tabelle 32 geht hervor, dass der Zerfall der Indolylessigsäure am schnellsten bei pH 5 und Licht erfolgt. Die Konzentration hat hier binnen 10 Tagen auf die Hälfte abgenommen; die Farbe der Lösung war rotbraun. Im Dunkel erfolgt die Oxydation bei gleichem pH bedeutend langsamer. Die neutrale, beleuchtete Lösung nimmt eine Zwischenstellung zwischen den beiden vorigen ein. Die Beleuchtung beschleunigt, die neutrale Reaktion hemmt den Zerfall. Bei pH 7 und im Dunkel scheint die Indolylessigsäure stabil zu sein.

Dass es sich wirklich um eine durch den Sauerstoff der Luft bedingte Oxydation handelt, konnte durch folgenden Versuch gezeigt werden. Eine neutrale Lösung von Indolylessigsäure wurde zwecks Entfernung der Luft gekocht und noch warm in eine Flasche gegossen, die gut verkorkt und paraffiniert wurde. Diese Lösung nebst einer Parallelprobe mit freiem Zutritt für den Sauerstoff der Luft wurden in das Licht gestellt. Nach 14 Tagen war die von der Luft abgeschlossene Lösung fortwährend farblos, die Kontrolle dagegen gelb.

Der oben beschriebene Versuch über die Stabilität der Indolylessigsäure wurde noch zweimal wiederholt, wobei die Indolylessigsäure in den Konzentrationen 0,01 bzw. 0,1 g je l verwendet wurde. Die Bestimmungen wurden in den in Tabelle 33 und 34 angegebenen Zeitpunkten vorgenommen.

Die Versuche bestätigen im grossen die früher erhaltenen Resultate. Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die Indolylessig-

Tabelle 33. Die Stabilität der Indolylessigsäure (Versuch 25). Die Zahlen geben Indolylessigsäure in g je l Lösung an.

pH	5,0		7,0	
Beleuchtungsverhältnisse	Licht	Dunkel	Licht	Dunkel
Indolylessigsäure nach 0 Tagen	0,010	0,010	0,010	0,010
» » 2 »	0,010	0,010	0,010	—
» » 4 »	0,008	0,010	0,009	—
» » 6 »	0,006	0,009	0,008	—
» » 8 »	< 0,005	0,009	0,006	0,010

Tabelle 34. Die Stabilität der Indolylessigsäure (Versuch 25). Die Zahlen geben Indolylessigsäure in g je l Lösung an.

pH	5,0		7,0	
Beleuchtungsverhältnisse	Licht	Dunkel	Licht	Dunkel
Indolylessigsäure nach 0 Tagen	0,100	0,100	0,100	0,100
» » 3 »	0,080	0,098	0,086	—
» » 6 »	0,037	0,103	0,058	—
» » 9 »	0,032	0,087	0,047	—
» » 12 »	0,025	0,083	0,036	0,100

säure vom Sauerstoff der Luft unter Bildung von gelben bis gelbbraunen Produkten oxydiert wird. Die Oxydation wird durch Licht katalysiert. In saurer Lösung verläuft sie schneller als in neutraler. Im Dunkel und in neutraler Lösung ist die Säure praktisch genommen stabil, wenigstens während kürzerer Zeit.

Nachdem obenstehende Untersuchung über die Stabilität der Indolylessigsäure beendet war, kam mir die von MITCHELL und BRUNSTETTER (1939) ausgearbeitete Methode zur quantitativen Bestimmung von Indolylessigsäure in die Hände. Die Methode gründet sich auf SALKOWSKIS (1885 b) Reaktion mit Ferrichlorid. Anstelle von Salzsäure, die keinen stabilen Farbstoff gab, verwendeten MITCHELL und BRUNSTETTER konzentrierte Schwefelsäure in grösserer Menge. Hierdurch war es möglich, den roten Farbstoff ohne Erhitzen bis zum Kochen zu erhalten.

5. Die Zerfallsprodukte der Indolylessigsäure.

Die Untersuchungen über die Stabilität der Indolylessigsäure haben gezeigt, dass Voraussetzungen bestehen, um die in Versuch 24 erhaltene Wachstumskurve mit Ausgangspunkt von den Zerfallsprodukten zu erklären, die bei der Oxydation der Säure gebildet werden; nämlich wenn angenommen wird, dass diese das Wachstum hemmen. Dass dies wirklich der Fall ist, zeigt der folgende Versuch.

Versuch 26. Die Wirkung der Zerfallsprodukte der Indolylessigsäure. Nährlösung A mit pH 5,0 wurde mit den Oxydationsprodukten der Indolylessigsäure in einer Konzentration von 1 mg je l, berechnet als nicht oxydierte Säure, versetzt.

Die Oxydationsprodukte wurden in folgender Weise erhalten. Eine Indolylessigsäurelösung von 10 mg Säure je l wurde mit einigen Tropfen 3 %-igem Wasserstoffperoxyd (Perhydrol, Merck) versetzt und gekocht, bis sie mit SALKOWSKIS Reagens keinen positiven Ausschlag mehr gab. Die Lösung zeigte eine gelbbraune Nuance. Sie wurde dann im Autoklaven erhitzt und auf Abwesenheit von Wasserstoffperoxyd geprüft. Beim Autoklavieren wurde die Indolylessigsäure wieder farblos. Diese Lösung wurde zum Zubereiten der oben erwähnten Nährlösung benutzt.

Auch auf »natürlichem« Weg erhaltene Oxydationsprodukte wurden geprüft. Eine Lösung von Indolylessigsäure in der Konzentration von 1 g je l wurde bei Luftzutritt im Licht stehen gelassen, bis sie eine rotbraune Farbe angenommen hatte. Sie enthielt jedoch fortwährend Indolylessigsäure. Diese Lösung wurde zum Zubereiten der oben genannten Nährlösung benutzt. *Chlorella vulgaris* B und *Scenedesmus obliquus*. Versuchszeit 8 Tage. Gedämpfte Beleuchtung, wie in allen folgenden Versuchen (Fenster gegen Norden, eventuell abgeschirmt). Tabelle 35.

Die Oxydationsprodukte der Indolylessigsäure zeigten eine deutlich hemmende Wirkung. Der Ertrag der lichtbehandelten Lösungen stand demjenigen der indolylessigsäurefreien Kontrollen nach (*Chlorella*) oder war ihm

Tabelle 35. Die Wirkung der Zerfallsprodukte der Indolylessigsäure (= Ind.E.S.) (Versuch 26). Anzahl Zellen je mm³.

Lösung	Kontrolle ohne Ind. E. S.	H ₂ O ₂ - behandelte Ind. E. S. 1 mg je l	Licht- behandelte Ind. E. S. 1 mg je l
<i>Chlorella vulgaris</i> B	2 000 1 400	170 190	640 510
<i>Scenedesmus obliquus</i>	1 300 1 300	460 520	1 200 1 000

Tabelle 36. Die Wirkung von Indolylessigsäure bei mixo- und heterotropher Ernährung (Versuch 27). Anzahl Zellen je mm³.

Indolylessigsäure mg je l . . .	0	1
<i>Chlorella vulgaris</i> B		
Lichtkulturen	9 300	5 800
	7 500	4 600
Dunkelkulturen	3 600	2 000
	3 500	2 200
<i>Scenedesmus obliquus</i>		
Lichtkulturen	20 000	21 000
	18 000	16 000
Dunkelkulturen	4 700	4 400
	5 000	3 900

jedenfalls nicht überlegen (*Scenedesmus*). Die Hemmung in den wasserstoffperoxydbehandelten Lösungen war in beiden Fällen sehr stark. Es ist deutlich, dass die Oxydation der Indolylessigsäure mit Wasserstoffperoxyd weiter gegangen ist, sowie dass die gebildeten Produkte eine schädlichere Wirkung gehabt haben als jene, die bei der »natürlichen« Oxydation gebildet werden.

Die Versuche berechtigen zu folgender Zusammenfassung. Die Indolylessigsäure ist in saurer Lösung wirksam. In neutraler (und alkalischer?) kann sie sich dagegen nicht geltend machen. Im Verlauf des Versuches wird die Indolylessigsäure oxydiert, ein Prozess, der vom Licht katalysiert wird. Die gebildeten Oxydationsprodukte wirken hemmend auf das Wachstum. Gedämpfte Beleuchtung und kurze Versuchszeit vermindern den störenden Effekt. Eine Ertragsbestimmung in einem ungeeigneten Zeitpunkt kann leicht den Eindruck hervorrufen, dass die Säure ohne Effekt ist oder hemmend wirkt.

Ein Versuch, die störenden Umstände zu eliminieren, erscheint verlockend. Laut Versuch 25 ist die Indolylessigsäure in neutraler Lösung und im Dunkel stabil. Die Verwendung einer neutralen Lösung konnte indessen aus schon besprochenen Gründen nicht in Frage kommen. Dagegen bestand die Möglichkeit, das Licht durch Übergang von autotrophen zu heterotrophen Bedingungen auszuschliessen.

Versuch 27. Die Wirkung von Indolylessigsäure bei mixo- und heterotropher Ernährung. Wiederholte Versuche bei pH 5,0 zeigten, dass die Algen bei diesem pH unter heterotrophen Bedingungen sehr schlecht und oft unregelmässig wachsen. Aus diesem Grund wurde das pH 6,0 gewählt. Nährlösung A mit Glukose in der Konzentration 10 g je l. Die Lösung wurde teils direkt, teils nach Zusatz von Indolylessigsäure, 1 mg je l, verwendet. Licht und Dunkel. Tägliche Kontrolle. Versuchszeit 8 Tage. Tabelle 36.

**Tabelle 37. Die Adaptation der Algen an Indolylessigsäure (Versuch 28).
Anzahl Zellen je mm³.**

Indolylessigsäure mg je l	0	1
<i>Chlorella vulgaris</i> B	510 440	930 830

Sowohl bei mixo- wie heterotropher Ernährung ist die wachstumsfördernde Wirkung der Indolylessigsäure ganz ausgeblieben. Anstatt dessen ist, wenigstens in gewissen Fällen (*Chlorella*), eine deutlich negative Wirkung zutage getreten. Der Versuch deutet darauf hin, dass die Indolylessigsäure in ihrer Wirkung an die autotrophe Ernährung geknüpft ist.

Auch andere Erklärungen für den Verlauf der Wachstumskurve (Versuch 24, Tab. 30, Abb. 7) als die hier angeführten sind denkbar. BURSTRÖM (1942) konnte zeigen, dass die Zellen in Weizenwurzeln das Vermögen besitzen, sich an Heteroauxin anzupassen. Man könnte sich im vorliegenden Fall eine ähnliche Adaptation vorstellen: Die Algen reagieren anfangs auf Indolylessigsäure, passen sich aber nach einiger Zeit an diese an, wobei die Wirkung der Säure ausbleibt. Um diese Möglichkeit zu untersuchen, wurde folgender Versuch angestellt.

Versuch 28. Die Adaptation der Algen an Indolylessigsäure. Nährlösung A, pH 5,0, teils mit, teils ohne Indolylessigsäure (1 mg je l). Die Lösung wurde mit *Chlorella vulgaris* B geimpft, die in Heteroauxinlösung (1 mg je l) aufgezogen worden war. Versuchszeit 8 Tage. Tabelle 37.

Das Verhältnis zwischen dem Ertrag in der Kontrolle und in der Heteroauxinlösung beträgt 1 : 1,85. Das Ergebnis berechtigt zur Annahme, dass im vorliegenden Fall nicht mit einer Adaptation gerechnet zu werden braucht.

6. Weitere Versuche mit Indolylessigsäure und mit dieser vergleichbaren Verbindungen.

Noch ein weiterer Versuch mit Indolylessigsäure in verschiedenen Konzentrationen wurde angestellt. Die Bedingungen waren hierbei so optimal wie möglich: pH=5,0, gedämpfte Beleuchtung, kurze Versuchszeit. Da der Versuch zu nichts eigentlich Neuem führte, wird er hier nur summarisch angeführt. *Chlorella vulgaris* B zeigte wie früher den grössten Ertrag in der Konzentration 0,1—1 mg je l; 50 mg wirkten

Tabelle 38. Die Wirkung von Indolylessigsäure, Indolylpropionsäure, Indolylbutter-säure, Naphthalinessigsäure, Phenylelessigsäure sowie Phenylpropionsäure (Versuch 29). Anzahl Zellen je mm³.

Verbindung	—	Indolyl- essig- säure	Indolyl- propion- säure	Indolyl- butter- säure	Naph- thalin- essig- säure	Phenyl- essig- säure	Phenyl- propion- säure
Konzentr. in Mol je l .	0	5,7 · 10 ⁻⁶	5,7 · 10 ⁻⁶	5,7 · 10 ⁻⁶	5,7 · 10 ⁻⁶	5,7 · 10 ⁻⁶	5,7 · 10 ⁻⁶
<i>Chlorella vulgaris</i> B .	170 170	1 000 950	190 140	210 160	270 200	170 160	200 210
<i>Scenedesmus obliquus</i>	120 180	620 720	340 260	340 290	270 290	460 350	680 620

hemmend. *Scenedesmus obliquus* vertrug etwas höhere Konzentration; 10 mg je l. Auch hier wirkten 50 mg je l hemmend. Die Versuchsergebnisse stehen in guter Übereinstimmung mit früheren.

In einem späteren Versuch wurden auch die übrigen Algen geprüft. Die meisten von ihnen zeigten bei den herrschenden, verhältnismässig ungünstigen Bedingungen (niedriges pH, schwache Beleuchtung, kurze Versuchszeit) kaum ein Wachstum. *Chlorella vulgaris* M, *Scenedesmus dimorphus* sowie *Stichococcus bacillaris* waren die einzigen, die ausgezählt wurden. Es konnte keine Ertragssteigerung beobachtet werden; in höherer Konzentration Hemmung. Diese Algen wurden nicht weiter untersucht. Dagegen wurde ein Versuch über die Wirkungen der Homologen der Indolylessigsäure und damit vergleichbaren Verbindungen auf *Chlorella vulgaris* B und *Scenedesmus obliquus* an gestellt.

Versuch 29. Die Wirkung von Indolylessigsäure, ihrer Homologen und anderen Verbindungen. Nährlösung A, pH 5,0, wurde mit folgenden Verbindungen in der Konzentration 5,7 · 10⁻⁶ Mol je l versetzt (entsprechend 1 mg Indolylessigsäure je l): Indolyl-3-essigsäure, Indolyl-3-propionsäure, Indolyl-3-buttersäure, Naphthalin-1-essigsäure, Phenylelessigsäure sowie Phenylpropionsäure. Versuchszeit 8 Tage. Tabelle 38.

Nur die Indolylessigsäure zeigte eine sichere Wirkung auf *Chlorella*. Der Unterschied war hier indessen ungewöhnlich gross, der grösste, den ich je erhalten habe. *Scenedesmus* reagierte dagegen mehr oder weniger auf sämtliche zugesetzten Substanzen. Die besten Ergebnisse wurden mit Indolylessigsäure und Phenylpropionsäure erhalten. Die Homologen der Indolylessigsäure waren dieser selbst deutlich unterlegen.

Versuch 30. Die Indolylessigsäure als Kohlenstoff- und Stickstoffquelle. Hier werden einige Versuche über die Eignung der Indolylessigsäure als Kohlenstoff- und Stickstoffquelle zusammengefasst. Konzentration der Indolylessigsäure 1 mg je l.

Als Kohlenstoffquelle konnte die Indolylessigsäure nicht ausgenutzt werden. Im Dunkel wurde gar kein Wachstum erhalten. Im Licht und in kohlenstofffreier Atmosphäre gab *Chlorella vulgaris* B ein ganz unbedeutendes Wachstum sowohl in der Kontrolle wie in der Heteroauxinlösung. *Scenedesmus obliquus* wuchs dagegen gar nicht. In Licht und normaler Kohlenstoffatmosphäre war das Wachstum normal und in den Heteroauxinlösungen stärker als in den Kontrollen. Auch den Stickstoff der Indolylessigsäure konnten die Algen nicht ausnutzen. Aus den hier zusammengefassten Versuchen kann man den Schluss ziehen, dass die Indolylessigsäure kein Nährstoff im gewöhnlichen Sinne ist, sondern spezifische Wirkungen auf Wachstum und Stoffwechsel besitzt.

Die Indolylessigsäure ist am meisten bekannt wegen ihrer Wirkung auf das Streckungswachstum der Zellen höherer Pflanzen. In meinen Versuchen habe ich ab und zu Messungen der Zellengrösse der Algen vorgenommen, ohne hierbei Unterschiede zwischen den in Heteroauxinlösung und den in reiner Mineralsalzlösung gewachsenen entdecken zu können. Eine Ausnahme bildeten jedoch Lösungen mit hohem Gehalt von Indolylessigsäure, in denen der Ertrag sehr gering war. In solchen waren die Zellen bisweilen grösser als in der entsprechenden Kontrolle. Ein solcher Versuch wird hier unten wiedergegeben.

Versuch 31. Die Wirkung von Indolylessigsäure auf die Zellengrösse. Nährlösung A, pH 5,0. Indolylessigsäure in den Konzentrationen 1 bzw. 100 mg je l. Nach 8 Tagen wurde die Zellengrösse durch Messen mit dem Okularmikrometer bestimmt. In jeder Probe wurden 100 Zellen gemessen. Tabelle 39.

Tabelle 39. Die Wirkung von Indolylessigsäure auf die Zellengrösse (Versuch 31). Die Zahlen geben die Zellengrösse in μ an.

Indolylessigsäure mg je l	0	1	100
<i>Chlorella vulgaris</i> B	3,5 ± 0,06	3,5 ± 0,06	3,5 ± 0,06
<i>Scenedesmus obliquus</i>	5,3 ± 0,13	5,0 ± 0,13	7,0 ± 0,13

Chlorella vulgaris B zeigte keine Unterschiede in der Zellengrösse. *Scenedesmus obliquus* hatte dagegen in der höchsten Konzentration etwas grössere Zellen als in den übrigen Lösungen. Der Ernteertrag war normal, d.h. die niedrigere Heteroauxinkonzentration war der Kontrolle überlegen, die höhere unterlegen.

7. Besprechung der Versuchsergebnisse.

Die Indolylessigsäure hatte einen deutlich positiven Effekt auf die Zellteilung bei drei der untersuchten Grünalgen, nämlich *Chlorella sp.* A, *Chlorella vulgaris* B sowie *Scenedesmus obliquus*. Die wirksame Konzentration war verschieden hoch, für *Chlorella vulgaris* B 0,1—1 mg, für *Scenedesmus obliquus* 1—10 mg sowie schliesslich für *Chlorella sp.* A 10—50 mg je l. Bei 100 mg war keine wachstumsfördernde Wirkung zu beobachten, oder es machte sich sogar eine Giftwirkung geltend. Der Ernteertrag war beim Optimum 2—3 Mal so gross als in der Kontrolle, selten noch grösser.

PRATT (1938 a) fand für *Chlorella* ein Optimum bei 50 mg je l, und die Zellenanzahl war hierbei ungefähr 100 Mal so gross wie in der Kontrolle. Laut BRANNON und BARTSCH (1939) zeigte *Chlorella* das beste Wachstum bei 10 mg je l. Die Anzahl Zellen war hierbei 119 % grösser als in der Kontrolle. *Ulva* hatte ihr Optimum bei 1 mg je l (H. KYLIN 1942, LEVRING 1945 a). Eine 100 Mal stärkere Lösung tötete laut KYLIN die Zellen in einigen Tagen. Die Heteroauxinlösungen enthielten etwa dreimal so viele Zellen als die Kontrolle. YIN (1937) und LEONIAN und LILLY (1937), die keine Zunahme der Zellenanzahl erhielten, fanden das Heteroauxin in höheren Konzentrationen als 10 mg je l giftig.

Es ist mitunter hervorgehoben worden, dass die Wirkung der Auxine direkt von der Wasserstoffionenkonzentration abhängig sei. BONNER (1934) wies nach, dass die Zellenstreckung bei *Avena* mit dem pH variierte. Das Wachstum nahm mit steigender Azidität zu und folgte nahe der Dissoziationskurve für das Auxin. Nur die undissoziierte Säure hatte wachstumsfördernde Wirkungen. MARMER (1937) zeigte in Versuchen mit Wurzeln, Koleoptilen und Blättern, dass die Wirkungen von Indolylessigsäure und Homologen in alkalischer Lösung geringer sind als in saurer, und ALBAUM, KAISER und NESTLER (1937) haben gefunden, dass Indolylessigsäure bei niedrigem pH leichter in die Zellen von *Nitella* eindringt als bei hohem. Sie konnten zeigen, dass die Säure in

der Form von undissoziierten Molekülen eindringt. Das Eindringen hatte den Charakter eines einfachen Diffusionsprozesses.

Eigene Untersuchungen haben gezeigt, dass die Indolylessigsäure die Zellteilung in saurer, dagegen nicht in neutraler Lösung beeinflusst. Den besten Effekt gab pH 5,0; ein niedrigeres pH wurde nicht geprüft. Bei diesem pH sind etwa 25 % des Heteroauxins in undissoziierter Form vorhanden. Wahrscheinlich dringt das Heteroauxin in der Form von undissoziierten Molekülen in die Zellen ein. In welcher Form es nach dem Eindringen vorliegt, darüber gibt der Versuch natürlich keinen Aufschluss. PRATT (1938 a), der mit Heteroauxin eine sehr kräftige Wirkung erhalten hat, benutzte eine Lösung mit pH 4,0—4,5. Bei pH 4,5 ist etwa die Hälfte der Säure in undissoziierter Form vorhanden, bei pH 4,0 beträgt die Menge undissoziierter Säure 80 %. Es ist offenbar, dass PRATT mit einer Rasse gearbeitet hat, die Wasserstoffionen in hohem Grad vertragen hat. Ein eigener Versuch mit pH 4,3 gab kein Wachstum. BRANNON (1937) sowie BRANNON und BARTSCH (1939) fanden, dass das optimale pH zwischen 5,5 und 6,5 liegt. Laut ELLIOTT (1938) stimulierte die Indolylbuttersäure das Wachstum von *Euglena gracilis* über einer pH-Skala von 3—9, aber besonders gut bei 5,5. In neutraler und alkalischer Lösung war die ertragssteigernde Wirkung der Säure, verglichen mit derjenigen in schwach saurer Lösung, unbedeutend. H. KYLIN (1942) und LEVRING (1945 a und b) arbeiteten dagegen mit alkalischen Lösungen (pH 8,2). Bei diesem pH liegt der grössere Teil des Heteroauxins in Ionenform vor.

Die eigentümliche Form der Wachstumskurve, die in Versuch 24 erhalten worden ist, zeigt, dass der anfangs wachstumsstimulierende Effekt des Heteroauxins im Verlauf des Versuches in einen hemmenden übergegangen ist. Oxydationsprodukte der Indolylessigsäure sind für diese Hemmung verantwortlich gemacht worden. Nicht nur der Zutritt von Sauerstoff, sondern auch die Lichtintensität sind hierbei von Bedeutung. Für das Erzielen eines positiven Resultates sind sowohl die Länge der Versuchszeit wie auch die während des Versuches herrschenden Beleuchtungsverhältnisse entscheidend.

PRATT (1938 a) fand in seinen Versuchen keine Wachstumshemmung der hier angeführten Art. Die Heteroauxinkurven sind den Kontrollkurven während der ganzen Versuchszeit überlegen. Eine Wachstumskurve ganz anderer Beschaffenheit erhielten BRANNON und BARTSCH (1939). Von der Impfung bis zum fünfzehnten Versuchstag zeigte die Heteroauxinkultur eine erheblich grössere Zellteilungsfrequenz als die Kontrolle. Im letzteren Zeitpunkt war das Verhältnis

zwischen dem Ertrag in der Heteroauxinlösung und dem in der Kontrolle etwa 3 : 1. Nach dem fünfzehnten Tag war die Wachstumsgeschwindigkeit in der Kontrolle grösser als in der Heteroauxinlösung, sodass die beiden Kurven mit zunehmender Versuchszeit konvergierten. Am dreissigsten Tag war das Verhältnis zwischen der Heteroauxinlösung und der Kontrolle nur 1,3 : 1. Der Verlauf dieser Wachstumskurve zeigt eine gewisse Übereinstimmung mit der von mir erhaltenen und berechtigt zu der Annahme, dass die wachstumshemmenden Oxydationsprodukte sich mit dem Fortschreiten des Versuches mehr und mehr geltend gemacht haben.

Durch Studien der Wirkungen des Heteroauxins auf höhere Pflanzen ist man zu der Auffassung gelangt, dass diese Substanz die Bindungen zwischen den Pektinmolekülen in den jungen Zellwänden aufzulösen vermag. Hierdurch wird das Streckungswachstum ermöglicht. Eigene Versuche mit Algen gaben keine Zunahme der Zellengrösse. Eine Ausnahme bildeten höhere Konzentrationen, in denen die Zellteilung stark gehemmt war. In diesen konnte bisweilen eine Vergrösserung der Zellen auftreten. YIN (1937) teilt mit, dass der Zelldurchmesser von *Chlorella* nach Behandlung mit Heteroauxin von 6 auf 8 μ zugenommen hat, und BRANNON und BARTSCH (1939) fanden eine Tendenz zu Vergrösserung des Zellenvolumens bei *Mesotaenium*.

Andererseits fehlen keineswegs Angaben, dass das Heteroauxin auch bei höheren Pflanzen Zellteilungen auslösen können sollte. Zusammenstellungen hierüber sind in den auf S. 185 angeführten Arbeiten von BOYSEN JENSEN u.a. zu finden. Das Heteroauxin sollte demnach zwei ganz verschiedene Mechanismen in den Zellen beeinflussen können, entweder den Zellstreckungs-, oder den Zellteilungsmechanismus.

Die beiden Arten von Wachstum, Zellteilung und Zellstreckung, brauchen indessen nicht notwendig zwei voneinander unabhängige Erscheinungen zu sein. Geht man davon aus, dass das Auxin auch bei den Algen das Streckungswachstum der Zellen beeinflusst, sowie, dass eine Zellteilung eintritt, wenn die Zelle eine gewisse für die Art charakteristische Grösse erreicht hat, so kommt man zu dem Ergebnis, dass die Auxine die Zellteilung indirekt beeinflussen müssen, indem sie das Streckungswachstum der einzelnen Zelle beschleunigen. BURSTRÖM (1942) ist der erste, der es versucht hat, diese beiden Erscheinungen, Zellstreckung und Zellteilung hervorgerufen durch Heteroauxin, unter einem gemeinsamen Gesichtspunkt zu bringen, indem er auf LEVANS (1939) Untersuchungen an *Allium*-Wurzeln verweist. Wenn *Allium*-Wurzeln mit Indolylessigsäure behandelt wurden, kam es zu einer

Vergrößerung gewisser Zellen in der Cortex, und in einem Abstand von etwa 3 mm von der Spitze konnten Mitosen beobachtet werden. Die Chromosomenzahl variierte mit der Lage der Zellen im Verhältnis zur Spitze. Dieser zunächst war sie normal, höher oben waren die Zellen tetraploid oder schliesslich octoploid. Die zytologische Untersuchung zeigte, dass die Zellstreckung die primäre Reaktion sein muss, die Erhöhung der Chromosomenzahl dagegen eine sekundäre Erscheinung. Das Heteroauxin beeinflusst demnach die Zellstreckung, die ihrerseits zu einer Mitose stimuliert. Auf diese folgt indessen bei *Allium* keine Zellteilung. Die Zellen werden statt dessen polyploid. Ausgehend von diesem Gedankengang erscheint es weniger merkwürdig, dass eine Zunahme der Zellengrösse zuweilen in eigenen Versuchen bei höherer Konzentration von Indolylessigsäure beobachtet werden konnte, wo die Geschwindigkeit der Zellteilung stark gehemmt war.

Gewisse Erscheinungen bei den Algen sprechen indessen dafür, dass der Wirkungsmechanismus des Heteroauxins auf die Zellteilung ein anderer ist als der oben vermutete. Eigene Versuche zwecks Elimination des schädlichen Einflusses des Lichtes auf das Heteroauxin zeigten, dass diese Verbindung nur bei auto-, aber nicht bei mixo- oder heterotropher Ernährung wirksam war. Zu ähnlichen Ergebnissen gelangten BRANNON und BARTSCH (1939). Weitere Beweise dafür, dass die Wirksamkeit des Heteroauxins an die autotrophe Ernährung gebunden ist, liefern CHOŁODNY und GORBOVSKY (1939). Laut diesen Verfassern stieg die Assimilation beim Hanf auf das Doppelte und bei *Hydrangea* auf das Dreifache nach Behandlung mit Heteroauxin. ELLIOTT (1938) fand, dass das Heteroauxin die Zellteilung bei der autotrophen *Euglena gracilis* stimuliert, während eine farblose euglenoide Flagellate, *Khawkinea*, und eine gleichfalls farblose Ziliare, *Colpidium*, nicht stimuliert wurden. Es kann hinzugefügt werden, dass LEONIAN und LILLY (1937), die das Heteroauxin unwirksam fanden, mit glukosehaltigen Lösungen gearbeitet haben. Dass auch die heterotrophen Pilze in ihrem Wachstum gehemmt wurden, hat BOYSEN JENSEN (1932) gezeigt.

Es erscheint schwierig, den Wirkungsmechanismus des Heteroauxins einerseits mit erhöhter Dehnbarkeit der Zellenwand und hiervon abhängiger Zellstreckung (und Zellteilung?) zu verbinden, und ihn andererseits mit auto- bzw. heterotropher Ernährung in Beziehung zu bringen. Ein Effekt auf die Zellteilung via das Streckungswachstum ist bei *Euglena gracilis* ausserdem ausgeschlossen, da dieser Organismus keine Zellenwand hat. Hier muss demnach die vom Heteroauxin bedingte Zellteilung vom Plasma selbst abhängig sein. Versuche, das

Heteroauxin mit dem Stoffwechsel der Zellen in Beziehung zu bringen, fehlen nicht. Namentlich wurde seine Wirkung auf die Atmung beachtet (PRATT 1938 b, SKOOG, BROYER und GROSSENBACHER 1938, THIMANN 1940, COMMONER und THIMANN 1941, BERGER und AVERY 1943). Die Resultate widersprechen sich indessen teilweise und es scheint in diesem Punkt keine Klarheit erhalten worden zu sein. BURSTRÖM (1942) konnte zeigen, dass Heteroauxin den Kohlehydratstoffwechsel von Weizenwurzeln nicht beeinflusst. Das Streckungswachstum scheint laut BURSTRÖM nicht via das Plasma beeinflusst zu werden. ELLIOTTS (1938) Untersuchungen an *Euglena* sprechen indessen dafür, dass hier ein anderer Mechanismus als in den Weizenwurzeln vorliegt. Man wird also trotz allem zu der Annahme gezwungen, dass das Heteroauxin zwei prinzipiell verschiedene Wirkungsmechanismen besitzt. Einerseits scheint es die Zellenwand beeinflussen zu können. Hierbei kommt es zu einer Zellstreckung (höhere Pflanzen), eventuell gefolgt von einer Zellteilung oder wenigstens von beginnenden Kernteilungen (*Allium*). Andererseits scheint es Zellteilungen durch eine direkte Beeinflussung des Plasmas hervorzurufen zu können (*Euglena*). Welchem von diesen beiden Wirkungstypen die Chlorophyceen sich anschliessen, scheint gegenwärtig nicht mit Sicherheit entschieden werden zu können. Die bei mixo- und heterotropher Ernährung ausgebliebene Wirkung des Heteroauxins spricht jedoch dafür, dass es bei den Chlorophyceen das Plasma direkt beeinflusst.

Trotz günstiger äusserer Bedingungen kann es vorkommen, dass die stimulierende Wirkung der Indolylessigsäure auf die Chlorophyceen ausbleibt. Ähnliche Erfahrungen machte FRIES (1943) mit dem Protozoon von *Funaria*. »Nicht nur verschiedene Stämme reagierten verschieden stark, sondern ein und derselbe Stamm konnte eine wechselnde Empfindlichkeit für das Heteroauxin aufweisen.« FRIES schreibt die Variationen Verschiedenheiten in der Beschaffenheit des Impfmaterials zu. Vielleicht muss auch bei den Chlorophyceen mit solchen Faktoren gerechnet werden.

VI. Ascorbinsäure.

Trotzdem die Ascorbinsäure (Vitamin C) eine ausserordentlich grosse Verbreitung im Pflanzenreich hat, sind unsere Kenntnisse über ihre Bedeutung für die Pflanzen auffallend gering. Über die Rolle der Ascorbinsäure als Wirkstoff für autotrophe Mikroorganismen wussten wir bis vor kurzem gar nichts. Die während der letzten Jahren auf diesem Gebiet angestellten Untersuchungen sind in der Einleitung ausführlich besprochen.

1. Orientierende Versuche.

Orientierende Versuche über die Wirkungen von Ascorbinsäure wurden mit *Chlorella sp. A* sowie mit *Scenedesmus obliquus* als Versuchsorganismen angestellt. Als Grundlösung wurde Nährlösung C, pH 7,0, benutzt. Da die Ascorbinsäure bekanntlich sehr wenig stabil ist, wurde die Säure selbst nicht sterilisiert. Dagegen wurden alle Glasgefässe und Lösungsmittel in gebräuchlicher Weise autoklaviert. Es wurde ein Konzentrationsgebiet von 1—2 000 mg je l geprüft. *Scenedesmus* zeigte den grössten Ertrag in den höchsten Konzentrationen, während die Konzentration 500 mg je l für *Chlorella* schon zu hoch war. Der Ertrag in den Ascorbinsäurekulturen war ungefähr doppelt so gross wie in den Kontrollen, bisweilen noch grösser. Gleichwie für Indolylessigsäure war eine kurze Versuchszeit vorteilhaft. Es konnten pH-Verschiebungen in saurer Richtung verzeichnet werden. Dies war umso bemerkenswerter, als man auf Grund der Beschaffenheit der Stickstoffquelle eine Verschiebung in die entgegengesetzte Richtung erwartet haben würde.

Nachdem die ersten Versuche gezeigt hatten, dass die Ascorbinsäure auf das Wachstum einen merkbaren Effekt hatte, wurde ein grösserer Versuch mit neun verschiedenen Arten angestellt. Hierzu wurde die Nährlösung B (ungepuffert) verwendet. Die Lösungen wurden vor dem Impfen sterilisiert, da sich herausgestellt hatte, dass Pilzinfektionen mit dem oben beschriebenen Verfahren schwer zu vermeiden waren.

Es wurde ein Konzentrationsgebiet von 0,1 bis zu 1 000 mg je l untersucht. Nach 14 Tagen wurde folgendes Resultat erhalten. Die Kontrollen sowie die niedrigeren Ascorbinsäurekonzentrationen gaben ungefähr gleich grossen Ertrag. Mit erhöhtem Ascorbinsäuregehalt nahm das Wachstum ab und war in der höchsten Konzentration unbedeutend oder ganz fehlend. Die Lösungen zeigten eine starke pH-Verschiebung in saurer Richtung (pH ungefähr 4,0).

Dass das Ergebnis so vollständig von den früheren abwich, kann auf die Sterilisierung der Ascorbinsäure oder auf die Veränderungen in der Beschaffenheit der Mineralsalzlösungen zurückzuführen sein. In diesem Zusammenhang sei hervorgehoben, dass die Nährlösung C 0,2 g Phosphat je l enthält, die Nährlösung B nur 0,01 g. Die nächste Aufgabe war, die störenden pH-Verschiebungen zu vermeiden.

2. Das Konzentrationsgebiet. Ascorbinsäure als Kohlenstoffquelle.

Versuch 32. Die Wirkung von Ascorbinsäure in steigender Konzentration. Um pH-Senkungen zu vermeiden, die offenbar in irgend einem Zusammenhang mit der Anwesenheit von Ascorbinsäure standen, wurde eine gepufferte Lösung benutzt, nämlich Nährlösung A mit pH 7,0. Die Lösung wurde mit l-Ascorbinsäure (Hoffmann-La Roche) in folgenden Konzentrationen versetzt: 0,1, 1, 10,

Tabelle 40. Die Wirkung von Ascorbinsäure in steigender Konzentration (Versuch 32). Anzahl Zellen je mm³.

Ascorbinsäure mg je l	0	0,1	1	10	100	1 000
<i>Chlorella</i> sp. A	440 540	340 470	340 680	580 790	1 200 740	3 100 2 000
<i>Chlorella vulgaris</i> B	4 800 4 700	5 000 4 900	4 500 4 300	4 200 4 000	4 200 4 200	9 900 9 100
<i>Ankistrodesmus falcatus</i>	260 220	220 170	300 310	310 200	270 260	810 820
<i>Scenedesmus obliquus</i>	1 900 1 900	1 900 1 900	1 900 1 900	2 100 1 800	1 800 2 100	4 200 4 500
<i>Scenedesmus dimorphus</i>	1 200 1 300	1 500 1 400	1 500 1 300	1 500 1 400	1 300 1 400	2 400 2 400
<i>Scenedesmus acuminatus</i>	1 100 1 000	1 100 1 000	1 200 1 000	1 100 950	910 810	2 600 2 400
<i>Scenedesmus acutiformis</i>	110 90	140 80	110 110	100 80	140 60	160 130
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	850 890	1 100 940	910 920	780 900	720 940	1 900 —
<i>Stichococcus bacillaris</i>	2 600 1 500	2 000 2 100	2 100 2 300	2 200 3 100	2 800 2 000	2 400 —

100, 1 000 mg je l. Vor dem Zusatz wurde die Ascorbinsäure mit 1-n NaOH neutralisiert. Das Wachstum wurde durch tägliche Beobachtungen verfolgt. Die Proben wurden nach 10—11 Tagen fixiert. Tabelle 40.

Chlorella sp. A zeigte eine Ertragssteigerung bei 100 und 1 000 mg je l. Das Verhältnis zwischen Kontrolle und Ascorbinsäurekultur war in der höchsten Konzentration 1 : 5,2 (Mittelwert). Die Mehrzahl der Arten gab nur in der höchsten Konzentration eine Ertragssteigerung. Der Ertrag war etwa doppelt so gross wie in der Kontrolle. *Scenedesmus acutiformis* sowie *Stichococcus* wurden durch Ascorbinsäure nicht beeinflusst. Spätere Versuche haben jedoch dargetan, dass auch diese Algen gewöhnlich auf Ascorbinsäure reagieren. pH-Senkungen kamen nur in der höchsten Konzentration vor und waren hier unbedeutend: 0,1—0,2 Einheiten.

Es muss als eigentümlich aufgefasst werden, dass die Ascorbinsäure nur in der höchsten Konzentration wirksam gewesen ist. Will man dem Vitamin C eine katalysatorische Wirkung irgendeiner Art zuschreiben, so muss diese Konzentration überdies als auffallend hoch bezeichnet werden. Näher liegt die Annahme, dass die Ascorbinsäure den Algen als Kohlenstoffquelle gedient hat und dass die Ernährung demnach mixotroph gewesen ist. Eine Untersuchung des Wertes der Ascorbinsäure als Kohlenstoffquelle wurde für unbedingt notwendig erachtet.

Versuch 33. Die Ascorbinsäure als Kohlenstoffquelle. Nährlösung A, pH 7,0, mit und ohne Ascorbinsäure (1 g je l). Die Säure wurde wie in allen folgenden Versuchen mit 1-n NaOH neutralisiert. Die Lösungen wurden nach dem Impfen teils in Licht, teils in Dunkel gestellt. Das Wachstum wurde durch tägliche Beobachtungen verfolgt. Versuchszeit 14 Tage. Tabelle 41.

Tabelle 41. Die Ascorbinsäure als Kohlenstoffquelle (Versuch 33). In der Tabelle bedeutet ++ sehr gutes, + gutes, ± schwaches, (±) sehr geringes und — kein Wachstum. Der Versuch wurde doppelt ausgeführt. Da sich zwischen den Parallelkulturen keine Unterschiede zeigten, wird hier nur die eine Serie mitgeteilt.

Beleuchtungsverhältnisse	Licht		Dunkel	
	0	1	0	1
Ascorbinsäure g je l				
<i>Chlorella sp. A</i>	±	++	(±)	(±)
<i>Chlorella vulgaris B</i>	+	++	(±)	(±)
<i>Ankistrodesmus falcatus</i>	+	+	—	—
<i>Scenedesmus obliquus</i>	+	++	(±)	(±)
<i>Scenedesmus dimorphus</i>	+	++	(±)	(±)
<i>Scenedesmus acuminatus</i>	+	++	(±)	(±)
<i>Scenedesmus acutiformis</i>	+	++	—	—
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	+	++	(±)	(±)
<i>Stichococcus bacillaris</i>	+	++	—	—

Die Tabelle zeigt, dass die Ascorbinsäure in den Lichtkulturen eine erhebliche Zunahme des Ertrages verursacht hat. Am grössten waren die Unterschiede bei *Chlorella sp. A*. Auch *Stichococcus* und *Sc. acutiformis* zeigten eine deutliche Differenz, wogegen die Steigerung bei *Ankistrodesmus* aus unbekannter Ursache ganz ausgeblieben ist. In den Dunkelkulturen war das Wachstum durchweg sehr schwach oder ganz fehlend. Unterschiede zwischen ascorbinsäurehaltigen und ascorbinsäurefreien Kulturen waren nicht zu entdecken.

Ein weiterer Versuch wurde mit *Scenedesmus obliquus* angestellt. Dieser wurde so variiert, dass die Kulturen teils im Dunkel, teils im Licht in kohlenstofffreier Atmosphäre standen. Auch in diesem Fall war das Wachstum in den Ascorbinsäurekulturen schwach und der anorganischen Kontrolle mit freiem Luftzutritt weit unterlegen.

Versuch 33 zeigt eindeutig, dass die Algen Ascorbinsäure nicht als Kohlenstoffquelle ausnutzen können.

3. Die Stabilität der Ascorbinsäure.

Die Ascorbinsäure wird ausser durch ihre grosse Löslichkeit in Wasser vor allem durch ihr Reduktionsvermögen charakterisiert. Letzteres ist die direkte Ursache der Unbeständigkeit des Vitamins. Schon bei gewöhnlicher Temperatur wird Ascorbinsäure in Lösung schnell durch den Sauerstoff der Luft oxydiert. Besonders bei alkalischer Reaktion ist die Empfindlichkeit gross.

Aus den orientierenden Versuchen sowie aus Versuch 32 geht hervor, dass die Ascorbinsäure nur in sehr hoher Konzentration wirksam gewesen ist. Es konnte nun vermutet werden, dass diese Erscheinung gerade mit der Unbeständigkeit der Säure im Zusammenhang stand. Aus diesem Grund wurde eine Serie von Versuchen über die Stabilität der Ascorbinsäure in verschiedenen Nährlösungen angestellt. Hiermit war auch beabsichtigt, die Bedeutung der Autoklavierung klarzulegen.

Versuch 34. Die Stabilität der Ascorbinsäure. Nährlösung B wurde mit neutralisierter Ascorbinsäure in den Konzentrationen 0,010, 0,050, 0,100 sowie 1,000 g je l versetzt. pH=7,0. Die Lösungen wurden auf 150 ml Kolben mit 50 ml in jedem verteilt. Eine Serie wurde bei 120° während 15 Minuten sterilisiert, eine andere verblieb unbehandelt. Die Kolben wurden in ein abgeschirmtes Fenster gegen Osten gestellt.

Zu den in Tabelle 42 angegebenen Zeiten wurde die Konzentration der Ascorbinsäure durch Titration mit 2,6 Dichlorphenol-indophenol bestimmt. Die Proben wurden steril entnommen und vor dem Titrieren mit einem gleichen Volumen 5 0/0-iger Metaphosphorsäure versetzt. In bezug auf die übrigen Einzelheiten der Methode sei auf SWENANDER LANKE (1939) verwiesen. Tabelle 42.

Tabelle 42. Die Stabilität der Ascorbinsäure (Versuch 34). Die Zahlen geben Ascorbinsäure in g je l Lösung an.

Behandlung d. Versuchsserie	Nicht sterilisiert				Sterilisiert 15 Min. bei 120° C			
	1	2	3	4	1	2	3	4
Nr. der Probe								
Ascorbinsäure nach 0 St. . .	0,010	0,050	0,100	1,000	0,010	0,050	0,100	1,000
» » 2,5 » ..	0	0,030	0,061	0,840	0	0	0,023	0,821
» » 26 » ..	—	0	0	0,638	—	—	0	0,557
» » 50 » ..	—	—	—	0,394	—	—	—	0,240
» » 74 » ..	—	—	—	0,211	—	—	—	0,058
» » 96 » ..	—	—	—	0,062	—	—	—	0
» » 120 » ..	—	—	—	0	—	—	—	—

Tabelle 43. Die Stabilität der Ascorbinsäure (Versuch 34). Die Zahlen geben Ascorbinsäure und Dehydroascorbinsäure in g je l Lösung an.

Behandlung d. Versuchsserie	Nicht sterilisiert				Sterilisiert 15 Min. bei 120° C			
	1	2	3	4	1	2	3	4
Nr. der Probe								
Ascorbinsäure nach 0 St. . .	0,010	0,050	0,100	1,000	0,010	0,050	0,100	1,000
» » 2,5 » ..	0	0,030	0,061	0,840	0	0	0,023	0,821
» » 26 » ..	—	0	0	0,638	—	—	0	0,557
Dehydroascor- binsäure » 50 » ..	0	0	0,014	—	0	0	0,012	—
Ascorbinsäure » 74 » ..	—	—	—	0,211	—	—	—	0,058
» » 96 » ..	—	—	—	0,062	—	—	—	0
Dehydroascor- binsäure » 120 » ..	—	—	—	0,033	—	—	—	0,034

Aus dem Versuch geht hervor, dass die Ascorbinsäure in den niedrigeren Konzentrationen schnell oxydiert wird. In der sterilisierten Lösung geht die Oxydation etwas schneller vor sich als in der nicht sterilisierten. Nur in der Konzentration von 1 g je l ist die Ascorbinsäure während etwas längerer Zeit haltbar. Nach 96 Stunden war sie in der sterilisierten und nach 120 Stunden in der nicht sterilisierten Lösung vollständig oxydiert.

Im Versuch wurden auch einige Bestimmungen der Menge Dehydroascorbinsäure ausgeführt; in den schwächeren Lösungen nach 50 Stunden, in den stärkeren nach 120 Stunden. Die Lösungen wurden mit 5 %iger Metaphosphorsäure auf ihr doppeltes Volumen verdünnt, worauf während 3 Stunden Schwefelwasserstoff eingeleitet wurde. Darauf wurden die Kolben verkorkt und über Nacht stehen gelassen. Am folgenden Tag wurde der Schwefelwasser-

Tabelle 44. Die Stabilität der Ascorbinsäure nach Sterilisierung bei 120° bzw. 100° C nebst nicht sterilisierter Kontrolle (Versuch 34). Die Zahlen geben Ascorbinsäure in g je l Lösung an.

Behandlung d. Versuchsserie	Nicht sterilisiert				Sterilisiert 15 Min. bei 120° C				Sterilisiert 15 Min. bei 100° C							
	Nr. der Probe				1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Ascorbinsäure nach 0 St.	0,010	0,050	0,100	1,000	0,010	0,050	0,100	1,000	0,010	0,050	0,100	1,000	0,010	0,050	0,100	1,000
» 2 »	0	0,020	0,063	0,814	0	0	0,034	0,764	—	—	—	—	—	—	—	—
» 5 »	—	0,006	0,050	0,777	—	—	0,031	0,736	0	0	0,029	0,741	—	—	—	—
» 22 »	—	0	0,015	0,557	—	—	0,017	0,534	—	—	0,016	0,534	—	—	—	—
» 46 »	—	—	0	0,391	—	—	0	0,271	—	—	0	0,276	—	—	—	—
» 70 »	—	—	—	0,179	—	—	—	0,087	—	—	—	0,092	—	—	—	—
» 96 »	—	—	—	0,154	—	—	—	0	—	—	—	0	—	—	—	—

stoff durch Einleiten eines schnellen Stromes Kohlendioxyd während 2,5 Stunden entfernt (Probe mit Bleiazetatpapier). Die Volumen wurden korrigiert und die Lösungen hierauf wie früher titriert.

Aus Tabelle 43, die auch den Gehalt der Ascorbinsäure der Lösungen zu verschiedenen Zeitpunkten angibt, geht hervor, dass nur die beiden stärksten Konzentrationen nachweisbare Mengen von Dehydroascorbinsäure im Zeitpunkt der Bestimmung enthielten. Ein Unterschied zwischen der sterilisierten und der nicht sterilisierten Lösung ist nicht vorhanden. Die Menge Dehydroascorbinsäure war, wenigstens in der höchsten Konzentration, recht beträchtlich.

Obenstehender Versuch wurde wiederholt, wobei jedoch nur die Ascorbinsäure bestimmt wurde. Hierbei wurde jedoch eine Serie bei 120° während 15 Minuten und eine bei 100° während gleich langer Zeit sterilisiert. Die Ergebnisse sind in Tabelle 44 zusammengestellt.

Ein nennenswerter Unterschied zwischen den bei 120° und den bei 100° sterilisierten Lösungen liegt nicht vor. Es ist also die Sterilisierung bei der höheren Temperatur vorzuziehen. Die sterilisierten Lösungen verhalten sich zu den nicht sterilisierten in ungefähr gleicher Weise wie früher (Tabelle 42).

Die oben beschriebenen Versuche geben ein recht gutes Bild von der Stabilität der Ascorbinsäure, entsprechen aber insofern nicht den Bedingungen in den Kulturversuchen, als die Nährlösungen in diesen mit Phosphatpuffer (m/150) versetzt werden mussten. Ohne diesen kam es nämlich zu einer pH-Senkung. Diese kann vielleicht zur Stabilisierung der Säure beitragen, da die Oxydation in saurer Lösung langsamer erfolgt als in alkalischer oder neutraler. Andererseits ist bekannt, dass Phosphat stabilisierend auf die Ascorbinsäure wirkt (GOLDSTEIN und KACHEROVA 1940). Es war daher notwendig, Klarheit über die Bedeutung dieser Faktoren für die Ascorbinsäure zu erhalten. Es wurde Nährlösung A mit pH 7,0 verwendet. Damit die Verhältnisse vollkommen identisch mit denjenigen in den Kulturversuchen werden sollten, wurden die Lösungen auf Reagenzrohre verteilt. Im übrigen wie oben. Tabelle 45.

Die Tabelle zeigt, dass die Ascorbinsäure gleichwie in den früheren Versuchen in den niedrigeren Konzentrationen sehr schnell oxydiert wird. Durch Zusatz von Phosphat wurde die Säure in der höchsten Konzentration höchst wesentlich stabilisiert. Während sie früher schon nach 96 Stunden oxydiert war, war in diesem Zeitpunkt nun noch $\frac{1}{10}$ derselben vorhanden (sterilisierte Serie). Ganz oxydiert war sie erst nach weiteren 100 Stunden. Wahrscheinlich hat der Austausch der Kolben gegen Reagenzrohre zu dem günstigen Resultat beigetragen. Hierdurch wird

Tabelle 45. Die Stabilität der Ascorbinsäure bei Anwesenheit von Phosphatpuffer (Versuch 34). Die Zahlen geben Ascorbinsäure in g je l Lösung an.

Behandlung d. Versuchsserie	Nicht sterilisiert				Sterilisiert 15 Min. bei 120° C			
	Nr. der Probe	1	2	3	4	1	2	3
Ascorbinsäure nach 0 St. ..	0,010	0,050	0,100	1,000	0,010	0,050	0,100	1,000
» » 5 » ..	0	0,006	0,025	0,731	0	0,002	0,007	0,729
» » 22 » ..	—	0	0	0,620	—	0	0	0,531
» » 46 » ..	—	—	—	0,402	—	—	—	0,336
» » 70 » ..	—	—	—	0,294	—	—	—	0,179
» » 96 » ..	—	—	—	0,230	—	—	—	0,115
» » 120 » ..	—	—	—	0,065	—	—	—	0,048
» » 146 » ..	—	—	—	0,041	—	—	—	0,009
» » 170 » ..	—	—	—	0,021	—	—	—	0,008
» » 196 » ..	—	—	—	0,014	—	—	—	0

nämlich die Berührungsfläche mit der Luft im Verhältnis zur Menge Ascorbinsäure etwas vermindert. Die sterilisierte Lösung hatte wie früher einen niedrigeren Gehalt an Ascorbinsäure als die nicht sterilisierte.

Dass eine pH-Senkung stattfindet, wenn eine neutralisierte Ascorbinsäurelösung bei freiem Luftzutritt sich selbst überlassen wird, ist in den früheren Versuchen wiederholt betont worden. Diese Erscheinung, von deren physiologischen Wirkungen man nicht absehen kann, schien mir eines besonderen Studiums wert.

Versuch 35. Die pH-Verschiebung bei der Oxydation der Ascorbinsäure. Nährlösung A wurde mit neutralisierter Ascorbinsäure bis auf 1 g je l versetzt; pH=7,0. In entsprechender Weise wurde eine Nährlösung B mit Ascorbinsäure zur gleichen Konzentration versetzt; pH=7,0. Die erste Lösung enthält Phosphatpuffer (m/150), die letztere nur sekundäres Phosphat (0,01 g je l). Das pH wurde vor und nach dem Sterilisieren sowie zu den in Tabelle 46 angegebenen Zeiten bestimmt. Es wurde eine Serie Reagenzrohre, je 10 ml enthaltend, sowie eine Serie 150 ml Erlenmeyerkolben, je 50 ml enthaltend, bereit gestellt. Tabelle 46.

Nach dem Sterilisieren war die gepufferte Lösung schwach gelb. Die Farbe nahm während der nächsten 120 Stunden etwas an Stärke zu. Diese Erscheinung, die darauf deutet, dass die Ascorbinsäure beim Autoklavieren zu zerfallen beginnt, wurde schon in früheren Versuchen beobachtet. Die ungepufferte Lösung war farblos. In der Pufferlösung war das pH unverändert 7,0. Erst nach 216 Stunden (9 Tagen) konnte eine pH-Senkung mit 0,1 beobachtet werden (Reagenzrohrserie). Wäh-

Tabelle 46. Die pH-Verschiebung bei der Oxydation der Ascorbinsäure (Versuch 35). Anfangskonzentration der Ascorbinsäure 1 g je 1 Lösung.

Versuchsgefäß	Reagenzrohre		Kolben	
	1	2	1	2
Nr. der Probe	Ge-puffert	Unge-puffert	Ge-puffert	Unge-puffert
pH vor der Sterilisierung	7,0	7,0	7,0	7,0
pH nach der Sterilisierung	7,0	6,4	—	—
» » 24 Stunden	7,0	6,5	7,0	6,6
» » 48 »	7,0	6,2	7,0	6,1
» » 72 »	7,0	5,9	6,9	5,7
» » 120 »	7,0	5,5	6,9	4,8
» » 168 »	7,0	5,4	6,9	4,8
» » 216 »	6,9	5,2	6,8	4,4
» » 264 »	6,9	5,2	6,8	4,4
» » 336 »	6,7	4,8	6,6	4,2
» » 432 »	6,6	4,4	6,6	4,3
» » 576 »	6,3	4,2	6,2	4,2

rend der folgenden Zeit nahm der pH-Wert langsam ab und betrug schliesslich nach 576 Stunden (24 Tagen) 6,3. Die ungepufferte Lösung zeigte dagegen schon nach dem Sterilisieren ein pH von 6,4. Der Wert nahm schnell ab und erreichte nach 216 Stunden (9 Tagen) 5,2 und nach 576 Stunden (24 Tagen) 4,2.

In der Kolbenserie traten die pH-Verschiebungen etwas früher ein, was mit der hier schneller verlaufenden Oxydation im Zusammenhang steht. Während der ersten drei Tage waren die Unterschiede jedoch unbedeutend. Nachdem der pH-Wert nach 14 Tagen in der ungepufferten Lösung 4,2 erreicht hatte, verblieb er unverändert.

Auch in den niedrigeren Konzentrationen kommt es zu erheblichen pH-Verschiebungen, was aus Tabelle 47 hervorgeht. Nährlösung B (un-gepuffert) wurde mit Ascorbinsäure zu 0,1 bzw. 0,01 g je 1 versetzt; pH=7,0 (Kolben).

Die ascorbinsäurefreie Kontrolle zeigte 2 Stunden nach dem Autoklavieren ein pH von 9,5. Nach einem Tage hatte die Lösung indessen ihren ursprünglichen Wert bis auf 0,1 wieder erreicht. Die Ascorbinsäurelösungen zeigten dagegen eine erhebliche pH-Senkung, die nach ca. 72 Stunden den tiefsten Wert, 5,2, in der stärksten Konzentration erreicht hatte. Die schwächere Lösung zeigte unmittelbar nach dem Sterilisieren ein pH von 6,5, welchen Wert sie dann praktisch unverändert beibehalten hat.

**Tabelle 47. Die pH-Verschiebung bei der Oxydation der Ascorbinsäure (Versuch 35).
Anfangskonzentration der Ascorbinsäure: 0,01 bzw. 0,1 g je l Lösung.
Ungepufferte Lösung; Versuchsgefäße: Kolben.**

Ascorbinsäure in g je l	0	0,01	0,1
pH vor der Sterilisierung	7,1	7,0	7,0
pH nach der Sterilisierung	9,5	6,5	5,8
» » 24 Stunden	7,2	6,4	5,8
» » 72 »	7,2	6,4	5,2
» » 144 »	7,2	6,5	5,2

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die Ascorbinsäure in verdünnter Lösung schnell oxydiert wird. Nur in der höchsten Konzentration, 1 g je l, ist sie während so langer Zeit anzutreffen, dass damit gerechnet werden kann, dass sich ihre physiologischen Wirkungen geltend machen können. In sterilisierten Lösungen verläuft die Oxydation schneller als in nicht sterilisierten. Hierbei ist es ziemlich gleichgültig, ob die Lösung auf 120° oder auf 100° erhitzt wird. Da das Autoklavieren bei der höheren Temperatur vollkommene Sterilität gibt, ist diese natürlich vorzuziehen. Dehydroascorbinsäure kommt in den stärksten Lösungen in beträchtlichen Mengen vor, auch nachdem diese ihr Reduktionsvermögen verloren haben. In den niedrigeren Konzentrationen verschwindet die Dehydroascorbinsäure dagegen schnell.

Während der Oxydation der Ascorbinsäure findet in der ursprünglich neutralen Lösung eine pH-Senkung statt. Das End-pH war in der höchsten Konzentration fast drei Einheiten niedriger als das Anfangs-pH. Durch einen Zusatz von Phosphatpuffer wurde nicht nur das pH der Lösung, sondern auch die Ascorbinsäure selbst stabilisiert. Infolge der geringen Kapazität des Puffers war indessen die Stabilisierung des pH keine vollständige. Jedoch betrug die pH-Verschiebung nach 10—12 Tagen nur 0,1 bis 0,2 Einheiten.

Die Versuche über die Stabilität der Ascorbinsäure und damit zusammenhängende Erscheinungen geben eine sehr gute Erklärung für die in Versuch 32 erhaltenen Resultate. Da die Ascorbinsäure und die gleichfalls aktive Dehydroascorbinsäure in den Nährlösungen nur in der höchsten Konzentration während längerer Zeit erhalten bleiben,

ist zu erwarten, dass das Wachstum nur in diesen Kulturen beschleunigt wird. Sehr empfindliche Algen, wie *Chlorella sp.* A scheinen jedoch auch in grösseren Verdünnungen beeinflusst zu werden. Dem günstigen Effekt der Ascorbinsäure muss durch die bei der Oxydation eintretende pH-Senkung in gewissem Mass entgegengewirkt werden, da das Wachstum mit fallendem pH abnimmt (Versuch 7). In gepufferter Lösung ist diese Hemmung unbedeutend. In einer ungepufferten Lösung hört das Wachstum dagegen zufolge der Zunahme der Azidität bald auf.

4. Der Wachstumsverlauf bei Anwesenheit von Ascorbinsäure.

Versuch 36. Der Wachstumsverlauf bei Anwesenheit von Ascorbinsäure. Nährlösung A, pH=7,0, mit und ohne Ascorbinsäure (1 g je l). Es wurde eine grosse Anzahl Kulturen zubereitet. Zu den in Tabelle 48 angegebenen Zeitpunkten wurden jeder Serie zwei Kulturen entnommen und ausgezählt. *Scenedesmus obliquus*. Tabelle 48. Abb. 8.

Sichere Unterschiede treten erst am achten Tag auf. Nach 10—12 Tagen ist der Unterschied maximal, nachher nimmt er langsam ab, da die Ascorbinsäurekulturen ihr Wachstum einstellen, während die Kontrolle erst nach ca. 23 Tagen ganz ausgewachsen ist. Auch nach dieser Zeit findet in der Kontrolle ein unbedeutendes Wachstum statt. Der Unterschied verschwindet daher mehr und mehr. Es sei daran erinnert, dass die Licht- und Temperaturverhältnisse von Versuch zu Versuch gewechselt haben, weshalb die für den maximalen Unterschied angegebene Zeit nur als approximativ betrachtet werden kann. Am besten ist es, die Kulturen von Tag zu Tag zu beobachten.

Die Erscheinung, dass die Ascorbinsäurekultur schon in einem frühen Stadium ihr Wachstum einstellt, kann mehrere Ursachen haben. Durch die oben erwähnte pH-Senkung ergeben sich in der Ascorbinsäurelösung schlechtere Milieubedingungen als in der Kontrolle. Die pH-Werte betragen nach 12, 14 und 23 Tagen 6,9, 6,8 bzw. 6,3. Eine Senkung um ein paar Zehntel (nach 14 Tagen) kann jedoch kaum die einzige Ursache dafür sein, dass das Wachstum eingestellt wird. Die Ursache hierfür muss an anderer Stelle gesucht werden. Vielleicht können die Produkte, die bei der Oxydation der Ascorbinsäure entstehen, eine Rolle spielen.

Tabelle 48. Der Wachstumsverlauf bei Anwesenheit von Ascorbinsäure (Versuch 36; Abb. 8). *Scenedesmus obliquus*. Anzahl Zellen je mm³.

Anzahl Tage	4	6	8	10	12	14	23	44
Kontrolle ohne Ascorbinsäure	340	950	1 800	2 000	2 600	3 500	4 700	6 900
	320	910	1 500	2 400	2 800	3 300	5 300	5 900
Ascorbinsäure 1 g je l ..	310	710	2 600	5 900	5 700	6 900	9 200	8 700
	310	910	2 400	5 600	6 000	8 200	8 000	7 800

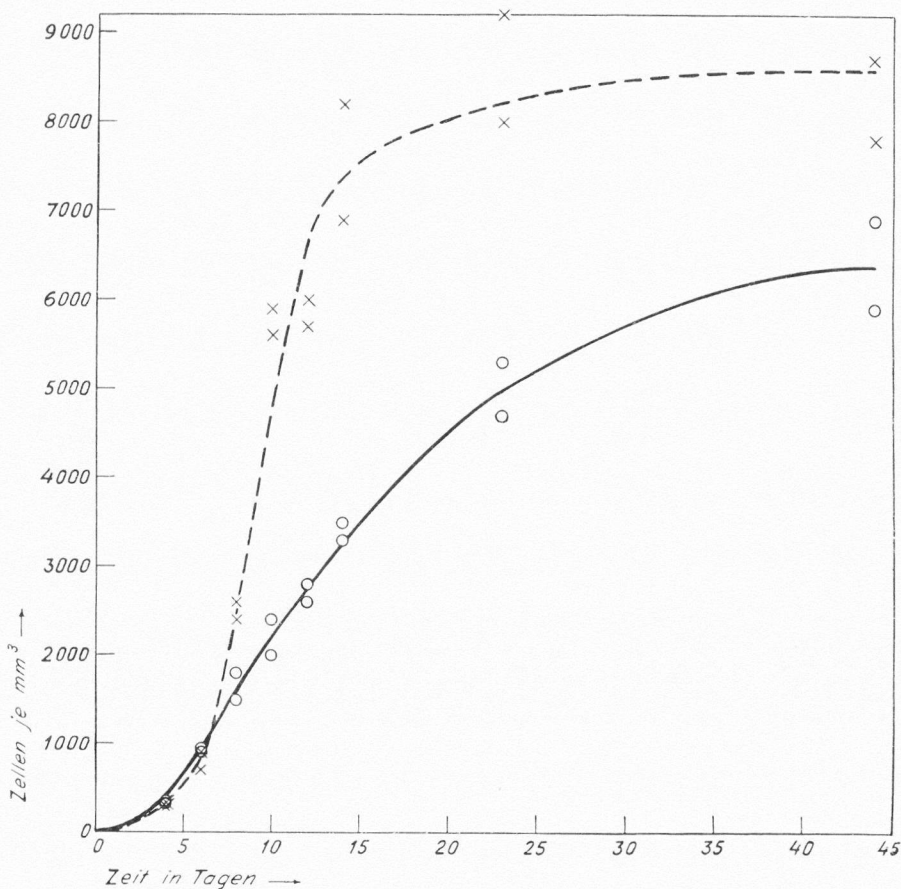


Abb. 8. Der Wachstumsverlauf bei Anwesenheit von Ascorbinsäure. Die Abszisse gibt die Zeit in Tagen, die Ordinate das Wachstum in Anzahl Zellen je mm³ an. Die voll ausgezogene Linie entspricht dem Wachstum in der ascorbinsäurefreien Kontrolle, die gestrichelte Linie dem Wachstum in einer Lösung mit 1 g Ascorbinsäure je l (Versuch 36, Tabelle 48).

5. Die Zerfallsprodukte der Ascorbinsäure.

Oben ist hervorgehoben worden, dass eine neutrale gepufferte Lösung von Ascorbinsäure mit pH 7,0 beim Autoklavieren einen schwach gelben Farbton annimmt, sowie dass dies auf einen beginnenden Zerfall des Vitamins hinweist. In einer sauren Lösung entsteht keine solche Farbenveränderung. In einer alkalischen kommt es zu einem starken Farbumschlag nach braun. In exakt gleicher Weise verhält sich Glukose. In einer alkalischen Lösung wird sie unter Bildung von sog. Karamel verharzt. Da die Ascorbinsäure nahe mit den Kohlehydraten verwandt ist, kann angenommen werden, dass die gebildeten gelben bis braunen Produkte gleicher Natur sind, wie die aus Glukose erhaltenen Verharzungsprodukte. Ein solcher Karamel kann indessen auf die Vermehrung der Algen fördernd wirken (PRINGSHEIM 1921 a, 1936). Es schien mir daher von grosser Bedeutung, die Rolle dieser braunen Farbstoffe in den Ascorbinsäurekulturen klarzulegen. Dies war möglich durch die Ausführung von Versuchen mit Ascorbinsäure bei verschiedenem pH.

Versuch 37. Die Wirkung der Ascorbinsäure bei verschiedenem pH. Folgende Lösungen wurden zubereitet: I. Nährlösung A mit pH 1) 6,5, 2) 7,0 und 3) 8,2. II. Gleiche Lösungen wie unter I, aber mit Ascorbinsäure in der Konzentration 1 g je l. Die saure Ascorbinsäurelösung war nach dem Sterilisieren farblos, die neutrale schwach gelb, die alkalische gelb. *Chlorella vulgaris* B sowie *Scenedesmus obliquus*. Versuchszeit 12 Tage. Tabelle 49 und 50.

Das Ergebnis muss im Hinblick auf die in den Lösungen aufgetretenen pH-Verschiebungen beurteilt werden (Tabelle 50). In den ascorbinsäurefreien Lösungen ist keine oder nur eine unbedeutende pH-Verschiebung vorhanden, in den Ascorbinsäurelösungen verdient sie dagegen Beachtung. Am geringsten ist sie in den neutralen Lösungen, wo sie 0,1—0,2 Einheiten beträgt, während sie in den alkalischen bis zu einer pH-Einheit oder mehr erreichen kann.

Das Verhältnis zwischen dem Ertrag in der Kontrolle und in der Ascorbinsäurekultur ist für *Chlorella* 1 : 2,2 bei pH 6,5 sowie 1 : 2,3 bei pH 7,0 (Mittelwerte). Für *Scenedesmus* sind die entsprechenden Zahlen 1 : 2,9 und 1 : 2,6. Das Resultat zeigt, dass die beim Autoklavieren gebildeten gelben Farbstoffe ohne Bedeutung sind. Die neutrale Lösung ist der sauren vorzuziehen, da man sich in ersterer näher dem pH-Optimum befindet.

Viel schwieriger ist es, die Ergebnisse in den alkalischen Lösungen zu beurteilen, da hier dem günstigen Effekt der Ascorbinsäure durch

**Tabelle 49. Die Wirkung der Ascorbinsäure bei verschiedenem pH (Versuch 37).
Anzahl Zellen je mm³.**

pH	6,5		7,0		8,2	
	0	1	0	1	0	1
<i>Chlorella vulgaris</i> B	6 100 5 600	14 000 12 000	6 600 7 500	17 000 16 000	6 200 —	19 000 —
<i>Scenedesmus obliquus</i>	3 100 2 800	8 300 8 600	4 000 5 100	11 000 13 000	9 300 7 500	10 000 10 000

**Tabelle 50. Die Wirkung der Ascorbinsäure bei verschiedenem pH (Versuch 37).
Das pH am Ende des Versuches.**

Anfangs-pH	6,5		7,0		8,2	
	0	1	0	1	0	1
<i>Chlorella vulgaris</i> B	6,5 6,5	6,2 6,2	7,0 7,0	6,9 6,8	8,0 —	7,1 —
<i>Scenedesmus obliquus</i>	6,5 6,5	6,3 6,2	7,0 7,1	6,8 6,9	8,1 8,0	7,2 7,1

eine erhebliche pH-Senkung entgegengewirkt wird. Bei *Chlorella* kann eine starke Stimulierung beobachtet werden, bei *Scenedesmus* fehlt sie oder ist unbedeutend. Welche Rolle die gelben Produkte bei diesem pH spielen, darüber gibt der Versuch kaum einen Aufschluss.

Die Verharzung der Ascorbinsäure beim Autoklavieren muss als eine Nebenreaktion betrachtet werden, die nichts mit der eigentlichen Oxydation zu tun hat. Unter den bei dieser entstehenden Produkten befindet sich eine Reihe chemisch gut definierter Substanzen, nämlich Dehydroascorbinsäure, Diketogulonsäure, Threonsäure sowie Oxalsäure. Aus Versuch 34 geht hervor, dass autoklavierte Lösungen ihr Reduktionsvermögen schneller verlieren als nicht autoklavierte. Es muss daher damit gerechnet werden, dass die ersteren in einem gewissen Zeitpunkt mehr Oxydationsprodukte enthalten als die letzteren, oder dass der Zerfall in den ersteren weiter gegangen ist. Ein Vergleich zwischen autoklavierter und steril filtrierter Lösung erschien hier am Platze.

Versuch 38. Die Wirkung der Oxydationsprodukte der Ascorbinsäure. Nährlösung A mit pH 7,0. Ascorbinsäure in der Konzentration 1 g je l. Die Ascorbinsäurelösung wurde in zwei Hälften geteilt, von denen die eine im Autoklaven sterilisiert (120°), die andere durch ein Chamberlandfilter filtriert wurde. *Chlorella vulgaris* B sowie *Scenedesmus obliquus*. Versuchszeit 8 Tage.

**Tabelle 51. Die Wirkung der Oxydationsprodukte der Ascorbinsäure (Versuch 38).
Anzahl Zellen je mm³.**

Alter der Lösung	Neu zubereitet			14 Tage alt
	Autoklaviert	Autoklaviert	Filtriert	Autoklaviert
Ascorbinsäure in g je l	0	1	1	1
<i>Chlorella vulgaris</i> B	1 400	3 600	5 200	530
	1 100	3 800	6 000	460
<i>Scenedesmus obliquus</i>	2 900	4 800	7 800	1 100
	3 000	4 900	5 400	1 100

Der Versuch wurde mit einem solchen über die direkte Wirkung der Zerfallsprodukte auf das Wachstum kombiniert. 0,1 g Ascorbinsäure wurde in 50 ml Wasser unter möglichst sterilen Bedingungen gelöst. Die Lösung, die stark saure Reaktion hatte, wurde nicht sterilisiert. Sie wurde 14 Tage (Tageslicht, Zimmertemperatur) sich selbst überlassen. Während dieser Zeit kam keine Mikroflora zur Entwicklung. Die Lösung reduzierte nach dieser Zeit 2,6 Dichlorphenol-indophenol nicht. Sie wurde neutralisiert und der Nährlösung in solchen Mengen zugesetzt, dass die fertige Lösung mit pH 7,0 1 g gespaltene Ascorbinsäure je l enthielt. Die Lösung nahm beim Sterilisieren eine braune Farbe an. Tabelle 51.

Der Ernteertrag in der steril filtrierte Lösung war erheblich grösser als in der autoklavierten. Keine pH-Verschiebungen. Wird der Versuch im Hinblick darauf betrachtet, was in bezug auf die Stabilität der Ascorbinsäure in autoklavierter bzw. nicht autoklavierter Lösung zutage gekommen ist, so muss damit gerechnet werden, dass der geringere Ertrag in der ersteren auf das Vorkommen von hemmenden Oxydationsprodukten zurückzuführen ist.

Dass die Oxydationsprodukte das Wachstum wirklich hemmen, geht aus einem Vergleich der Kolumnen 1, 2 und 4 in Tabelle 51 hervor. Die Frage nach der Natur der hemmenden Substanzen wird in einem anderen Zusammenhang besprochen werden. Hier soll nur eine Untersuchung über den Gehalt der Lösungen an Oxalsäure erwähnt werden. Einen Monat alte Lösungen von Ascorbinsäure (gepufferte und ungepufferte, sämtliche ungeimpft) wurden auf Oxalsäure geprüft. Es wurde nur ein unbedeutender Niederschlag von Kalziumoxalat erhalten. Er trat erst nach einem Tage auf. Die Kristalle zeigten im Mikroskop die bekannte Briefkuvertform. Die Lösungen enthielten also noch nach einem Monat nur unbedeutende Mengen Oxalsäure.

6. Die Giftwirkung der Ascorbinsäure.

Versuch 39. Die Giftwirkung der Ascorbinsäure. Um eine obere Grenze für die Wirksamkeit der Ascorbinsäure zu finden, wurde folgender Versuch angestellt. Nährlösung A wurde so modifiziert, dass der Puffer in bezug auf Phosphat m/30 betrug; pH=7,0. Ascorbinsäure in folgenden Konzentrationen: 1, 2, 5 und 10 g je l. *Chlorella vulgaris* B, *Scenedesmus obliquus* sowie *Scenedesmus quadricauda*. Versuchszeit 12 Tage. Tabelle 52 und 53.

Chlorella scheint von der Konzentration der Ascorbinsäure verhältnismässig unabhängig zu sein (Tabelle 52). Die beiden *Scenedesmus*-Arten zeigen dagegen den grössten Ertrag bei 1, bzw. 2 g je l. In der höchsten Konzentration treten schädliche Wirkungen auf.

Das Wachstum muss indessen mit Rücksicht auf die in den Lösungen auftretenden pH-Senkungen beurteilt werden (Tabelle 53). Man findet dann, dass diese an dem mit der Konzentrationszunahme abnehmenden Wachstum ihren Anteil haben müssen. Addiert man hierzu die Hemmung, die durch die Oxydationsprodukte bedingt wird (Versuch 38), so kann hieraus der Schluss gezogen werden, dass das Wachstum mit steigender Konzentration nicht nennenswert abgenommen hätte, wenn die negativen Faktoren hätten eliminiert werden können.

Tabelle 52. Die Giftwirkung der Ascorbinsäure (Versuch 39). Anzahl Zellen je mm³.

Ascorbinsäure g je l	0	1	2	5	10
<i>Chlorella vulgaris</i> B	6 600	14 000	14 000	11 000	14 000
	7 200	13 000	12 000	11 000	11 000
<i>Scenedesmus obliquus</i>	2 200	6 400	4 000	2 800	700
	2 300	5 900	4 600	2 400	770
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	910	1 700	2 500	940	690
	1 100	1 800	2 200	1 500	660

Tabelle 53. Die Giftwirkung der Ascorbinsäure (Versuch 39). Das pH am Ende des Versuches. Anfangs-pH = 7,0.

Ascorbinsäure g je l	0	1	2	5	10
<i>Chlorella vulgaris</i> B	7,0	6,9	6,8	6,6	6,6
	7,0	6,9	6,7	6,6	6,6
<i>Scenedesmus obliquus</i>	7,0	7,0	6,9	6,7	6,4
	7,0	7,0	6,9	6,7	6,4
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	7,0	7,0	6,8	6,6	6,5
	7,0	6,9	6,9	6,6	6,4

5 g je l gab einen Ertrag, der dem der Kontrolle vergleichbar oder überlegen gewesen ist.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die Ascorbinsäure selbst auch in hoher Konzentration unschädlich ist. Die beobachteten schädlichen Wirkungen beruhen auf veränderten Milieubedingungen, die im Zusammenhang mit der Oxydation der Säure auftreten.

7. Die Stabilisierung der Ascorbinsäure.

Trotzdem die Ascorbinsäure von molekularem Sauerstoff leicht oxydiert wird, kommt sie in den pflanzlichen und tierischen Organismen gewöhnlich in der reduzierten Form vor. Man hat aus diesem Grunde angenommen, dass die Zellen Substanzen enthalten, die die Ascorbinsäure vor Oxydation schützen. Solche Schutzstoffe sind sowohl in pflanzlichen wie tierischen Geweben auch tatsächlich nachgewiesen worden (DE CARO und GIANI 1934, v. HAUSEN 1936, WACHHOLDER 1942). Es hat sich herausgestellt, dass auch eine Reihe chemisch gut definierter Substanzen von sehr wechselnder Natur die Oxydation herabsetzen oder ganz verhindern können. Unter diesen sind zu erwähnen: Kaliumcyanid, Natriumchlorid, Metaphosphorsäure, Orto- und Pyrophosphat, Glykokoll, Alanin, Cystin, Cystein, Glutathion und Adenylsäure. Die Schutzwirkung der verschiedenen Substanzen dürfte wenigstens zum Teil darauf beruhen, dass die sog. Autoxydation der Ascorbinsäure in Wirklichkeit eine durch Schwermetalle katalysierte Reaktion ist.

Mehrere der oben genannten Stoffe können in physiologischen Versuchen zur Verwendung kommen. Die Rolle des Phosphates ist bereits behandelt worden (S. 216). Von den übrigen anorganischen Salzen scheint nur das Natriumchlorid in Frage zu kommen. Eine m/2 Lösung desselben vermochte die Ascorbinsäure vollständig vor Oxydation zu schützen (ARMENTANO 1940). Von den Aminosäuren waren die schwefelhaltigen den übrigen weitaus überlegen (DE CARO und GIANI 1934). Unter diesen wurden Cystin und Cystein gewählt. Ausserdem wurde ein Extrakt von *Tropaeolum* geprüft (v. HAUSEN 1936). Die Versuchsserie wurde mit einer rein chemischen Untersuchung über den Effekt der stabilisierenden Substanzen eingeleitet.

Versuch 40. Die Stabilisierung der Ascorbinsäure. Chemischer Versuch. Nährlösung A, pH 7,0. Neutralisierte Ascorbinsäure 1 g je l. Die Lösung wurde mit folgenden Stabilisatoren versetzt: m/3 Natriumchlorid, m/1 000 Cystein, m/1 000 Cystin (Aufschlammung) sowie Extrakt von *Tropaeolum majus*, 1 : 9.

**Tabelle 54. Die Stabilisierung der Ascorbinsäure. Chemischer Versuch (Versuch 40).
Die Zahlen geben Ascorbinsäure in g je l Lösung an.**

Stabilisierender Stoff	—	NaCl	Cystein	Cystin	Tropaeolum- extrakt
Konzentration	0	m/3	m/1000	m/1000	1 : 9
Ascorbinsäure nach 0 St.	1,000	1,000	1,000	1,000	0,905
» » 2 »	0,834	0,886	0,905	0,907	0,846
» » 46 »	0,351	0,580	0,699	0,685	0,712
» » 96 »	0,139	0,473	0,567	0,523	0,626
» » 144 »	0,013	0,145	0,454	0,302	0,569
» » 192 »	0,005	0,017	0,288	0,265	0,487
» » 264 »	0	0	0,088	0,160	0,357
» » 336 »	—	—	0,007	0,006	0,336
» » 424 »	—	—	0	0	0,302

Der letztere wurde durch Extraktion von 20 g *Tropaeolum*-Blättern mit 100 ml Aq. bidest. bei 100° C erhalten. Der Extrakt wurde filtriert, worauf sein Ascorbinsäuregehalt durch Titrieren mit Dichlorphenol-indophenol bestimmt wurde. Aus diesem Wert sowie aus dem Mischungsverhältnis wurde der schliessliche Gehalt der Lösung an Ascorbinsäure berechnet. Sie enthielt 0,905 g je l und war demnach ärmer an Ascorbinsäure als die übrigen Lösungen. Die Lösungen wurden auf Reagenzrohre verteilt. Tabelle 54.

Die zugesetzten Substanzen wirken in hohem Masse schützend auf die Ascorbinsäure. Den grössten Effekt hatte der *Tropaeolum*-Extrakt. Nach 424 Stunden ist nur $\frac{1}{3}$ der Säure oxydiert gewesen. Cystein hat ungefähr dieselbe Wirkung wie Cystin. Noch nach 336 Stunden enthielten die Lösungen nachweisbare Mengen von Ascorbinsäure. Auch Natriumchlorid hatte eine nicht zu verachtende Wirkung. Nach 264 Stunden waren jedoch sowohl die NaCl-Lösung wie die Kontrolle ascorbinsäurefrei.

Versuch 41. Die Stabilisierung der Ascorbinsäure. Physiologischer Versuch. Dieser Versuch sollte klarlegen, ob die stabilisierte Ascorbinsäure eine stärkere Wirkung auf das Wachstum hat als die nicht stabilisierte. Für den Fall eines positiven Effekts war beabsichtigt, die Wirkung der Ascorbinsäure auch bei ganz kleinen Konzentrationen zu prüfen. Gleiche Lösungen wie im vorigen Versuch. Ausserdem ascorbinsäurefreie Kontrollen.

Leider entsprach das Ergebnis nicht den Erwartungen. Es zeigte sich nämlich, dass sämtliche Schutzsubstanzen so starke Störungen des Wachstums zur Folge hatten, dass die Ascorbinsäure überhaupt nicht zur Geltung kommen konnte. Da die Zahlen ohne grösseres Interesse sind, werden sie hier nicht angeführt. Dass der Versuch, der ja ein

ganz negatives Resultat ergab, hier überhaupt aufgenommen wurde, beruht darauf, dass zwischen den Ascorbinsäurekulturen einerseits und den ascorbinsäurefreien Kontrollen andererseits ein sehr markanter Unterschied vorlag. Während das Chlorophyll in den letzteren mehr oder weniger gut ausgebildet war, hatten sämtliche Ascorbinsäurekulturen eine stark grüne Farbe, sodass man bei oberflächlicher Betrachtung leicht zu der unrichtigen Auffassung kommen konnte, der Ertrag in diesen sei demjenigen der Kontrollen überlegen. Schon frühere Versuche haben den Verdacht erweckt, die Algen in den Ascorbinsäurekulturen seien chlorophyllreicher als die der entsprechenden vitamin-C-freien Kontrollen. Indessen ist der Unterschied dort nicht so deutlich zutage getreten wie in diesem Versuch. Die Beobachtung war von solcher Bedeutung, dass sie mir einer besonderen Untersuchung wert schien.

8. Chlorophyllgehalt und Kohlensäureassimilation der Ascorbinsäurekulturen.

Versuch 42. Der Chlorophyll- und Carotinoidgehalt in den Ascorbinsäurekulturen. Nährlösung A, pH 7,0, teils mit, teils ohne Ascorbinsäure (1 g je l). In den zuerst angestellten Versuchen wurden Erlenmeyerkolben von 1 Liter mit 500 ml Lösung benutzt. Später wurden 500 ml Kolben mit 200 ml Lösung verwendet. Die Versuchszeit variierte aus unten angegebenen Gründen etwas.

Am Ende der Versuchszeit wurde das Verhältnis zwischen dem Ernteertrag in der Ascorbinsäurekultur und dem der entsprechenden Kontrolle bestimmt. Der Chlorophyllgehalt wurde nach WILLSTÄTTER und STOLL (1913) festgestellt. Die Algen wurden abzentrifugiert und in 30—50 ml Wasser aufgeschlämmt, das zum Kochen erhitzt wurde. Nach dem Abkühlen wurde reines Aceton zugesetzt, bis die Lösung in dieser Beziehung 80 %-ig war. Ein Erwärmen auf dem Wasserbad (ca. 60°) war für die Extraktion notwendig. Die Lösung wurde ab und zu mit Aceton versetzt, um das ursprüngliche Volumen beizubehalten. Schliesslich wurde sie über Nacht bei Zimmertemperatur stehen gelassen.

Wie aus Vorstehendem hervorgeht, bereitete es grosse Schwierigkeiten, das Chlorophyll quantitativ zu extrahieren. Da jüngere Kulturen leichter zu extrahieren waren als ältere, wurde die Versuchszeit in den weiteren Versuchen verkürzt (s. Tabelle 55). Als Lösungsmittel wurde ausser Aceton auch Alkohol geprüft, jedoch ohne besseres Resultat.

Nach vollständigem Extrahieren des Chlorophylls wurde die Acetonlösung durch einen Filtertiegel filtriert, worauf sie in einen Scheidetrichter übergeführt und mit Äther versetzt wurde. Wasser wurde in kleinen Mengen zugesetzt, bis eine Schichtung eintrat. Das Chlorophyll ging hierbei in die Ätherlösung über, während die Hauptmenge des Acetons zusammen mit dem Wasser entfernt werden konnte. Die Ätherlösung wurde viermal mit Wasser gewaschen, worauf sie mit frisch zubereitetem alkalischen Methylalkohol versetzt wurde.

Tabelle 55. Das Verhältnis zwischen dem Chlorophyll-(Carotinoid-)gehalt in den ascorbinsäurefreien Kontrollen und in den Ascorbinsäurekulturen, berechnet auf die gleiche Menge Algen (Versuch 42). A.S.-Kultur = Ascorbinsäurekultur.

Pigment	Chlorophyll	Carotinoide	Versuchs- zeit in Tagen
	Kontrolle	Kontrolle	
	A.S.-Kultur	A.S.-Kultur	
<i>Chlorella</i> sp. A	1 : 1,6	1 : 2,0	30
<i>Chlorella vulgaris</i> B	1 : 2,7	1 : 3,4	26
<i>Scenedesmus obliquus</i>	1 : 2,1	1 : 3,4	28
<i>Scenedesmus dimorphus</i>	1 : 1,5	1 : 1,1	14
<i>Scenedesmus acuminatus</i>	1 : 1,4	1 : 1,9	15
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	1 : 2,9	1 : 2,8	17
<i>Stichococcus bacillaris</i>	1 : 1,5	1 : 1,5	18

Nach vollständiger Verseifung wurde Wasser und festes Kochsalz zugesetzt. Nach Umschütteln und Schichtung wurde die grüne chlorophyllinhaltige wässrige Lösung von der gelben carotinoidhaltigen ätherischen Lösung getrennt. Letztere wurde mit Wasser gewaschen, das mit der Chlorophyllinlösung vereinigt wurde. Diese wurde ihrerseits mit Äther gewaschen, der mit der Carotinoidlösung vereinigt wurde. Die Chlorophyllinlösungen von der Ascorbinsäurekultur und der Kontrolle wurden auf gleiches Volumen gebracht, worauf die Korrektur für die Unterschiede in der Zellanzahl je Volumeneinheit vorgenommen wurde. Hierauf wurden die Lösungen im Vergleich miteinander kolorimetriert. In entsprechender Weise wurde mit den Ätherlösungen verfahren. Tabelle 55 zeigt das Verhältnis zwischen dem Chlorophyllgehalt in der Kontrolle und in der Ascorbinsäurekultur berechnet auf dieselbe Menge Algen, nebst dem entsprechenden Verhältnis zwischen den Carotinoidgehalten.

Aus dem Versuch geht hervor, dass die in der Ascorbinsäurekultur gewachsenen Algen einen Chlorophyllgehalt haben, der bedeutend höher ist als der in den Kontrollen. In vier der untersuchten Fälle ist der Chlorophyllgehalt etwa 1,5, in einem Fall 2 und in zwei Fällen fast 3 Mal so gross. Die Unterschiede im Carotinoidgehalt sind, mit einer Ausnahme, in sämtlichen Fällen gleich oder grösser als die Unterschiede im Chlorophyllgehalt. Die verschiedenen Arten verhalten sich im Prinzip in gleicher Weise, obgleich quantitative Unterschiede bestehen. Es ist also offenbar, dass die Wirksamkeit der Ascorbinsäure in irgend einer Weise mit der Zunahme des Chlorophyllgehaltes verknüpft ist. Wie die Ascorbinsäure die Kohlensäureassimilation beeinflusst, geht aus folgenden Versuchen hervor.

Versuch 43. Die Assimilation der Algen nach kurzer Behandlung mit Ascorbinsäure. Kulturen von *Chlorella vulgaris* B sowie *Scenedesmus obliquus* wurden in Nährlösung B aufgezogen; pH 7,0. Nach 14 Tagen wurden die Algen abzentrifugiert, in 20 ml Aq. bidest. aufgeschlämmt, worauf die Suspension nach gründlichem Umschütteln in zwei gleiche Hälften geteilt wurde. Die eine wurde mit 10 ml m/150 Phosphatpuffer versetzt, die andere gleichfalls mit 10 ml Puffer, der aber neutralisierte Ascorbinsäure enthielt. Die schliessliche Konzentration der Ascorbinsäure betrug 0,5 g je l. pH 7,0. Die Algensuspensionen wurden 48 Stunden im Dunkel verwahrt. Darauf wurden die Algen abzentrifugiert (eine Justierung für einen Unterschied im Wachstum erwies sich als überflüssig) und zweimal mit Karbonatpuffer gewaschen (15 ml m/10 Natriumkarbonat + 85 ml m/10 Natriumbikarbonat, pH 9,2). Schliesslich wurden sie im oben genannten Karbonatpuffer aufgeschlämmt, worauf Atmung und Assimilation im WARBURG-Apparat bestimmt wurden. Der Versuch wurde mit Ascorbinsäure in der Konzentration 1 g je l wiederholt.

In bezug auf Einzelheiten der Methodik sei auf die Arbeiten von DICKENS (1941) sowie STEINER (1941) verwiesen. Hier soll nur erwähnt werden, dass ein vollständiges Entfernen der Ascorbinsäure unerlässlich war, da sie sowohl in reduzierter wie in oxydierter Form Sauerstoff aufnimmt. Jede Kultur wurde mit einer 200-Watt Lampe beleuchtet. Wegen der Wärmeentwicklung der Lampen musste eine Kupferspirale mit fliessendem Wasser in das Bad einmontiert werden, sodass eine konstante Temperatur von 25° C erhalten werden konnte. Die Schüttelfrequenz betrug 120 Schläge in der Minute. Tabellen 56—59.

Aus dem Versuch geht hervor, dass die Ascorbinsäurebehandlung die *Chlorella*-Kulturen direkt schädlich beeinflusst hat (Tab. 56, 58). Die reelle Assimilation betrug nur $\frac{6}{10}$ — $\frac{7}{10}$ der der Kontrollen. Bei höherer Konzentration war die schädliche Wirkung stärker. Die *Scenedesmus*-Kulturen schienen dagegen von der Ascorbinsäure gar nicht beeinflusst zu werden (Tab. 57, 59).

Tabelle 56. Die Assimilation der Algen nach 48-stündiger Behandlung mit Ascorbinsäure, 0,5 g je l, im Dunkeln. *Chlorella vulgaris* B. Alter der Kultur 14 Tage (Versuch 43). Assim. = Assimilation; A.S.-Kult. = Ascorbinsäurekultur.

Zeit in Minuten	Kontrolle			Ascorbinsäurekultur			Reelle Assim. A.S.-Kult. Kontrolle
	Apparente Assim. mm ³ O ₂	Atmung mm ³ O ₂	Reelle Assim. mm ³ O ₂	Apparente Assim. mm ³ O ₂	Atmung mm ³ O ₂	Reelle Assim. mm ³ O ₂	
20	36,3	4,8		20,9	4,9		
20	46,4	4,8		31,4	4,9		
20; Mittelwerte	41,4	4,8	46,2	26,2	4,9	31,1	0,7 : 1
10	20,3	2,4		13,4	2,5		
10	26,1	2,4		16,4	2,5		
10; Mittelwerte	23,2	2,4	25,6	14,9	2,5	17,4	0,7 : 1

Tabelle 57. Die Assimilation der Algen nach 48-stündiger Behandlung mit Ascorbinsäure, 0,5 g je l, im Dunkeln. Scenedesmus obliquus. Alter der Kultur 14 Tage (Versuch 43). Assim. = Assimilation; A.S.-Kult. = Ascorbinsäurekultur.

Zeit in Minuten	Kontrolle			Ascorbinsäurekultur			Reelle Assim. A.S.-Kult. Kontrolle
	Apparente Assim. mm ³ O ₂	Atmung mm ³ O ₂	Reelle Assim. mm ³ O ₂	Apparente Assim. mm ³ O ₂	Atmung mm ³ O ₂	Reelle Assim. mm ³ O ₂	
15	56,6	3,0		53,7	2,9		
15	50,7	4,5		50,8	4,4		
15	50,7	3,0		49,3	2,9		
15	55,1	4,5		53,7	2,9		
15; Mittelwerte	53,3	3,8	57,1	51,9	3,3	55,2	1,0 : 1

Tabelle 58. Die Assimilation der Algen nach 48-stündiger Behandlung mit Ascorbinsäure, 1 g je l, im Dunkeln. Chlorella vulgaris B. Alter der Kultur 14 Tage (Versuch 43). Assim. = Assimilation; A.S.-Kult. = Ascorbinsäurekultur.

Zeit in Minuten	Kontrolle			Ascorbinsäurekultur			Reelle Assim. A.S.-Kult. Kontrolle
	Apparente Assim. mm ³ O ₂	Atmung mm ³ O ₂	Reelle Assim. mm ³ O ₂	Apparente Assim. mm ³ O ₂	Atmung mm ³ O ₂	Reelle Assim. mm ³ O ₂	
20	37,7	6,7	44,4	23,8	4,5	28,3	0,6 : 1
10	21,8	3,4		14,9	2,2		
10	16,0	3,4		8,9	2,2		
10; Mittelwerte	18,9	3,4	22,3	11,9	2,2	14,1	0,6 : 1

Tabelle 59. Die Assimilation der Algen nach 48-stündiger Behandlung mit Ascorbinsäure, 1 g je l, im Dunkeln. Scenedesmus obliquus. Alter der Kultur 14 Tage (Versuch 43). Assim. = Assimilation; A.S.-Kult. = Ascorbinsäurekultur.

Zeit in Minuten	Kontrolle			Ascorbinsäurekultur			Reelle Assim. A.S.-Kult. Kontrolle
	Apparente Assim. mm ³ O ₂	Atmung mm ³ O ₂	Reelle Assim. mm ³ O ₂	Apparente Assim. mm ³ O ₂	Atmung mm ³ O ₂	Reelle Assim. mm ³ O ₂	
15	44,7	6,0		43,5	4,4		
15	41,7	3,0		43,5	2,9		
15	41,7	3,0		40,6	2,9		
15	41,7	4,5		42,1	4,4		
15; Mittelwerte	42,5	4,1	46,6	42,4	3,7	46,1	1,0 : 1

Tabelle 60. Die Assimilation der Algen nach 48-stündiger Behandlung mit Ascorbinsäure, 0,5 g je l, im Licht. *Chlorella vulgaris* B. Alter der Kultur 17 Tage (Versuch 43). Assim. = Assimilation; A.S.-Kult. = Ascorbinsäurekultur.

Zeit in Minuten	Kontrolle			Ascorbinsäurekultur			Reelle Assim. A.S.-Kult. Kontrolle
	Apparente Assim. mm ³ O ₂	Atmung mm ³ O ₂	Reelle Assim. mm ³ O ₂	Apparente Assim. mm ³ O ₂	Atmung mm ³ O ₂	Reelle Assim. mm ³ O ₂	
20	17,4	4,4		19,4	4,5		
20	20,3	2,9		23,8	3,0		
20	20,3	—		19,4	—		
20; Mittelwerte	19,3	3,7	23,0	20,9	3,8	24,7	1,1 : 1
15	11,6	2,9	14,5	11,9	3,0	14,9	1,0 : 1

Tabelle 61. Die Assimilation der Algen nach 48-stündiger Behandlung mit Ascorbinsäure, 0,5 g je l, im Licht. *Scenedesmus obliquus*. Alter der Kultur 13 Tage (Versuch 43). Assim. = Assimilation; A.S.-Kult. = Ascorbinsäurekultur.

Zeit in Minuten	Kontrolle			Ascorbinsäurekultur			Reelle Assim. A.S.-Kult. Kontrolle
	Apparente Assim. mm ³ O ₂	Atmung mm ³ O ₂	Reelle Assim. mm ³ O ₂	Apparente Assim. mm ³ O ₂	Atmung mm ³ O ₂	Reelle Assim. mm ³ O ₂	
15	67,1	6,0		63,8	5,8		
15	58,1	3,0		68,2	2,9		
15	71,5	3,0		81,2	4,4		
15	56,6	4,5		66,7	4,4		
15; Mittelwerte	63,3	4,1	67,4	70,0	4,4	74,4	1,1 : 1

Der negative Effekt auf *Chlorella* steht in schlechter Übereinstimmung mit den Wachstumsversuchen. Um die Verhältnisse mit diesen besser übereinstimmend zu machen, wurden die Kulturen während der Ascorbinsäurebehandlung beleuchtet (48 Stunden). Hierauf wurden Assimilation und Atmung wie früher bestimmt. Tabellen 60—63.

Die Tabellen zeigen, dass die ascorbinsäurebehandelten Algen eine Assimilation haben, die derjenigen der Kontrollen gleichgestellt oder etwas überlegen ist. Der Unterschied in der Assimilation nach Ascorbinsäurebehandlung im Dunkel bzw. im Licht ist namentlich in bezug auf *Chlorella* auffallend (Tabellen 56, 58, 60, 62).

Der Versuch zeigt, dass die Ascorbinsäure im Licht und im Dunkel verschiedene Wirkung hat. Im Licht hatte sie bei den herrschenden Verhältnissen keinen oder nur einen schwach positiven Effekt auf die

Tabelle 62. Die Assimilation der Algen nach 48-stündiger Behandlung mit Ascorbinsäure, 1 g je l, im Licht. *Chlorella vulgaris* B. Alter der Kultur 14 Tage (Versuch 43). Assim. = Assimilation; A.S.-Kult. = Ascorbinsäurekultur.

Zeit in Minuten	Kontrolle			Ascorbinsäurekultur			Reelle Assim. A.S.-Kult. Kontrolle
	Apparente Assim. mm ³ O ₂	Atmung mm ³ O ₂	Reelle Assim. mm ³ O ₂	Apparente Assim. mm ³ O ₂	Atmung mm ³ O ₂	Reelle Assim. mm ³ O ₂	
15	65,3	7,3		56,6	8,9		
15	46,4	7,3		52,2	7,5		
15	62,4	5,8		59,6	6,0		
15	56,6	5,8		49,7	7,5		
15; Mittelwerte	57,7	6,6	64,3	54,5	7,5	62,0	1,0 : 1

Tabelle 63. Die Assimilation der Algen nach 48-stündiger Behandlung mit Ascorbinsäure, 1 g je l, im Licht. *Scenedesmus obliquus*. Alter der Kultur 13 Tage (Versuch 43). Assim. = Assimilation; A.S.-Kult. = Ascorbinsäurekultur.

Zeit in Minuten	Kontrolle			Ascorbinsäurekultur			Reelle Assim. A.S.-Kult. Kontrolle
	Apparente Assim. mm ³ O ₂	Atmung mm ³ O ₂	Reelle Assim. mm ³ O ₂	Apparente Assim. mm ³ O ₂	Atmung mm ³ O ₂	Reelle Assim. mm ³ O ₂	
15	50,7	4,5		60,9	4,4		
15	41,7	3,0		49,3	2,9		
15	44,7	3,0		52,2	2,9		
15	44,7	3,0		49,3	2,9		
15; Mittelwerte	45,5	3,4	48,9	52,9	3,3	56,2	1,1 : 1

Assimilation. Im Dunkel wirkte sie dagegen schädlich auf die nachfolgende Assimilation von *Chlorella*, während *Scenedesmus* sich weniger empfindlich zeigte. Der Versuch spricht ferner dafür, dass die Ascorbinsäure nicht direkt in den Assimilationsprozess eingreift. Solchenfalls hätte man erwartet, dass ihre positiven Wirkungen nach der 48-stündigen Behandlung stärker zutage getreten wären. Erfolgt die Beeinflussung via die Chlorophyllbildung, so soll der Unterschied in der Assimilation umso grösser sein, je länger die Ascorbinsäurebehandlung gedauert hat. Am rationellsten scheint es mir hierbei, die Assimilation von in Ascorbinsäurelösung aufgezogenen Algen mit der von in reiner Mineralsalzlösung aufgezogenen zu vergleichen.

Versuch 44. Die Assimilation der Ascorbinsäurekulturen. Chlorella vulgaris B, *Scenedesmus obliquus* sowie *Scenedesmus quadricauda* wurden in Nährlösung

A, die 1 g Ascorbinsäure je l enthielt, aufgezogen. Ausserdem ascorbinsäurefreie Kontrollen. Nach 12—18 Tagen (s. die Tabellen) wurde der Ertrag in den Kulturen bestimmt. Es wurde eine Justierung für Unterschiede durchgeführt, sodass die Ascorbinsäurekulturen und die entsprechenden Kontrollen gleichviele Zellen je Volumeneinheit enthielten. Es wurden gleich grosse Volumen zentrifugiert und die Algen zweimal mit Karbonatpuffer gewaschen. Assimilation und Atmung wurden hierauf wie früher im WARBURG-Apparat bestimmt. Die Versuchsergebnisse sind in den Tabellen 64—73 zusammengestellt.

Tabelle 64. Die Assimilation der Ascorbinsäurekulturen. *Chlorella vulgaris* B. Alter der Kultur 18 Tage (Versuch 44). Assim. = Assimilation; A.S.-Kult. = Ascorbinsäurekultur.

Zeit in Minuten	Kontrolle			Ascorbinsäurekultur			Reelle Assim. A.S.-Kult. Kontrolle
	Apparente Assim. mm ³ O ₂	Atmung mm ³ O ₂	Reelle Assim. mm ³ O ₂	Apparente Assim. mm ³ O ₂	Atmung mm ³ O ₂	Reelle Assim. mm ³ O ₂	
15	26,8	3,0		49,3	2,9		
15	25,3	3,0		50,8	2,9		
15	23,8	1,5		49,3	1,5		
15	23,8	1,5		47,9	2,9		
15; Mittelwerte	24,9	2,3	27,2	49,3	2,6	51,9	1,9 : 1

Tabelle 65. Die Assimilation der Ascorbinsäurekulturen. *Chlorella vulgaris* B. Alter der Kultur 18 Tage (Versuch 44). Assim. = Assimilation; A.S.-Kult. = Ascorbinsäurekultur.

Zeit in Minuten	Kontrolle			Ascorbinsäurekultur			Reelle Assim. A.S.-Kult. Kontrolle
	Apparente Assim. mm ³ O ₂	Atmung mm ³ O ₂	Reelle Assim. mm ³ O ₂	Apparente Assim. mm ³ O ₂	Atmung mm ³ O ₂	Reelle Assim. mm ³ O ₂	
15	38,7	7,5		47,9	4,4		
15	38,7	3,0		53,7	5,8		
15	37,3	4,5		47,9	5,8		
15	35,8	3,0		46,4	2,9		
15; Mittelwerte	37,6	4,5	42,1	49,0	4,7	53,7	1,3 : 1

**Tabelle 66. Die Assimilation der Ascorbinsäurekulturen. *Scenedesmus obliquus*.
Alter der Kultur 12 Tage (Versuch 44). Assim. = Assimilation;
A.S.-Kult. = Ascorbinsäurekultur.**

Zeit in Minuten	Kontrolle			Ascorbinsäurekultur			Reelle Assim. A.S.-Kult. Kontrolle
	Apparente Assim. mm ³ O ₂	Atmung mm ³ O ₂	Reelle Assim. mm ³ O ₂	Apparente Assim. mm ³ O ₂	Atmung mm ³ O ₂	Reelle Assim. mm ³ O ₂	
15	18,9	2,9		37,3	4,5		
15	17,4	2,9		34,3	3,0		
15	10,2	—		28,3	—		
15	17,4	—		38,7	—		
15; Mittelwerte	16,0	2,9	18,9	34,7	3,8	38,5	2,0 : 1

**Tabelle 67. Die Assimilation der Ascorbinsäurekulturen. *Scenedesmus obliquus*.
Alter der Kultur 14 Tage (Versuch 44). Assim. = Assimilation;
A.S.-Kult. = Ascorbinsäurekultur.**

Zeit in Minuten	Kontrolle			Ascorbinsäurekultur			Reelle Assim. A.S.-Kult. Kontrolle
	Apparente Assim. mm ³ O ₂	Atmung mm ³ O ₂	Reelle Assim. mm ³ O ₂	Apparente Assim. mm ³ O ₂	Atmung mm ³ O ₂	Reelle Assim. mm ³ O ₂	
15	30,5	5,8		56,6	8,9		
15	29,0	2,9		53,6	3,0		
15	30,5	4,4		65,6	3,0		
15	31,9	4,4		65,6	4,5		
15	31,9	—		61,1	—		
15; Mittelwerte	30,8	4,4	35,2	60,5	4,9	65,4	1,9 : 1

**Tabelle 68. Die Assimilation der Ascorbinsäurekulturen. *Scenedesmus obliquus*.
Alter der Kultur 16 Tage (Versuch 44). Assim. = Assimilation;
A.S.-Kult. = Ascorbinsäurekultur.**

Zeit in Minuten	Kontrolle			Ascorbinsäurekultur			Reelle Assim. A.S.-Kult. Kontrolle
	Apparente Assim. mm ³ O ₂	Atmung mm ³ O ₂	Reelle Assim. mm ³ O ₂	Apparente Assim. mm ³ O ₂	Atmung mm ³ O ₂	Reelle Assim. mm ³ O ₂	
15	33,4	5,8		83,4	6,0		
15	45,0	4,4		104,3	4,5		
15	39,2	5,8		90,9	6,0		
15	39,2	2,9		95,4	3,0		
15	34,8	—		86,4	—		
15; Mittelwerte	38,3	4,7	43,0	92,1	4,9	97,0	2,3 : 1

**Tabelle 69. Die Assimilation der Ascorbinsäurekulturen. *Scenedesmus obliquus*.
Alter der Kultur 16 Tage (Versuch 44). Assim. = Assimilation;
A.S.-Kult. = Ascorbinsäurekultur.**

Zeit in Minuten	Kontrolle			Ascorbinsäurekultur			Reelle Assim. A.S.-Kult. Kontrolle
	Apparente Assim. mm ³ O ₂	Atmung mm ³ O ₂	Reelle Assim. mm ³ O ₂	Apparente Assim. mm ³ O ₂	Atmung mm ³ O ₂	Reelle Assim. mm ³ O ₂	
15	66,7	13,1		96,9	14,9		
15	58,0	8,7		92,4	10,4		
15	60,9	8,7		80,5	8,9		
15	55,1	8,7		76,0	8,9		
15	59,5	—		104,3	—		
15; Mittelwerte	60,0	9,8	69,8	90,0	10,8	100,8	1,4 : 1

**Tabelle 70. Die Assimilation der Ascorbinsäurekulturen. *Scenedesmus obliquus*.
Alter der Kultur 17 Tage (Versuch 44). Assim. = Assimilation;
A.S.-Kult. = Ascorbinsäurekultur.**

Zeit in Minuten	Kontrolle			Ascorbinsäurekultur			Reelle Assim. A.S.-Kult. Kontrolle
	Apparente Assim. mm ³ O ₂	Atmung mm ³ O ₂	Reelle Assim. mm ³ O ₂	Apparente Assim. mm ³ O ₂	Atmung mm ³ O ₂	Reelle Assim. mm ³ O ₂	
15	42,1	7,3		68,5	7,5		
15	37,7	7,3		55,1	7,5		
15	45,0	5,8		68,5	6,0		
15	45,0	7,3		65,6	7,5		
15; Mittelwerte	42,5	6,9	49,4	64,4	7,1	71,5	1,4 : 1

**Tabelle 71. Die Assimilation der Ascorbinsäurekulturen. *Scenedesmus quadricauda*.
Alter der Kultur 16 Tage (Versuch 44). Assim. = Assimilation;
A.S.-Kult. = Ascorbinsäurekultur.**

Zeit in Minuten	Kontrolle			Ascorbinsäurekultur			Reelle Assim. A.S.-Kult. Kontrolle
	Apparente Assim. mm ³ O ₂	Atmung mm ³ O ₂	Reelle Assim. mm ³ O ₂	Apparente Assim. mm ³ O ₂	Atmung mm ³ O ₂	Reelle Assim. mm ³ O ₂	
15	42,1	1,5		86,4	3,0		
15	36,3	1,5		73,0	3,0		
15	40,6	2,9		86,4	4,5		
15	37,7	2,9		77,5	6,0		
15; Mittelwerte	39,2	2,2	41,4	80,8	4,1	84,9	2,1 : 1

**Tabelle 72. Die Assimilation der Ascorbinsäurekulturen. *Scenedesmus quadricauda*.
Alter der Kultur 16 Tage (Versuch 44). Assim. = Assimilation;
A.S.-Kult. = Ascorbinsäurekultur.**

Zeit in Minuten	Kontrolle			Ascorbinsäurekultur			Reelle Assim. A.S.-Kult. Kontrolle
	Apparente Assim. mm ³ O ₂	Atmung mm ³ O ₂	Reelle Assim. mm ³ O ₂	Apparente Assim. mm ³ O ₂	Atmung mm ³ O ₂	Reelle Assim. mm ³ O ₂	
15	46,4	4,4		79,0	6,0		
15	50,8	2,9		83,4	4,5		
15	46,4	2,9		82,0	4,5		
15	49,3	2,9		90,9	6,0		
15; Mittelwerte	48,2	3,3	51,5	83,8	5,3	89,1	1,7 : 1

**Tabelle 73. Die Assimilation der Ascorbinsäurekulturen. *Scenedesmus quadricauda*.
Alter der Kultur 17 Tage (Versuch 44). Assim. = Assimilation;
A.S.-Kult. = Ascorbinsäurekultur.**

Zeit in Minuten	Kontrolle			Ascorbinsäurekultur			Reelle Assim. A.S.-Kult. Kontrolle
	Apparente Assim. mm ³ O ₂	Atmung mm ³ O ₂	Reelle Assim. mm ³ O ₂	Apparente Assim. mm ³ O ₂	Atmung mm ³ O ₂	Reelle Assim. mm ³ O ₂	
15	30,5	2,9		41,7	6,0		
15	30,5	2,9		53,6	4,5		
15	29,0	2,9		46,2	4,5		
15	27,6	2,9		49,2	3,0		
15; Mittelwerte	29,4	2,9	32,3	47,7	4,5	52,2	1,6 : 1

Die Tabellen zeigen, dass die in Ascorbinsäurelösung gewachsenen Algen bedeutend stärker assimiliert haben als die in den entsprechenden ascorbinsäurefreien Kontrollen. Das Verhältnis zwischen der Assimilation in den beiden Kulturen kann beträchtlich variieren. Der niedrigste bzw. höchste Wert war für *Chlorella* 1,3 : 1 und 1,9 : 1, für *Scenedesmus obliquus* 1,4 : 1 und 2,3 : 1 sowie für *Scenedesmus quadricauda* 1,6 : 1 und 2,1 : 1. Hierbei ist zu beachten, dass die Kulturen in bezug auf das Alter oft nicht gleichwertig gewesen sind.

Auch die Atmung zeigt eine Tendenz zu Steigerung in den Ascorbinsäurekulturen. In mehreren Fällen ist der Unterschied indessen unbedeutend oder er fehlt vollkommen.

Da die CO₂-Assimilation der assimilierenden Fläche proportional ist, ist es denkbar, dass die Ascorbinsäure ganz einfach eine Vergröße-

Tabelle 74. Die Zellengrösse, ausgedrückt in μ , in den Ascorbinsäurekulturen nebst den ascorbinsäurefreien Kontrollen (Versuch 44).

Ascorbinsäure g je l	0	1
<i>Chlorella vulgaris</i> B (Durchmesser)	3,7 $\pm 0,06$	3,7 $\pm 0,06$
<i>Scenedesmus obliquus</i> (Zellenlänge)	7,8 $\pm 0,10$	8,0 $\pm 0,11$
<i>Scenedesmus obliquus</i> (Grösste Zellenbreite)	4,3 $\pm 0,06$	4,5 $\pm 0,08$
<i>Scenedesmus quadricauda</i> (Cönobienlänge)	16,1 $\pm 0,14$	16,1 $\pm 0,21$
<i>Scenedesmus quadricauda</i> (Cönobienbreite)	11,2 $\pm 0,14$	11,2 $\pm 0,11$

rung dieser verursacht, was sich solchenfalls in einer Vergrösserung der Zellen selbst zu erkennen geben müsste. Laut Tabelle 74 besteht indessen kein Unterschied in der Zellengrösse zwischen Ascorbinsäurekultur und Kontrolle. Die Ursache der Assimilationserhöhung ist also anderswo zu suchen. Eine Untersuchung, ob zwischen CO₂-Assimilation, Chlorophyllgehalt und Wachstum ein Zusammenhang vorhanden ist, erschien berechtigt.

Versuch 45. Der Zusammenhang zwischen Assimilation, Chlorophyllgehalt und Wachstum. Scenedesmus obliquus wurde in Nährlösung A, pH 7,0, mit und ohne Ascorbinsäure (1 g je l) kultiviert. 150 ml Kolben mit 50 ml Lösung in jedem. Nach sechs bzw. vierzehn Tagen wurden Assimilation, Chlorophyllgehalt, Wachstum und pH der Kulturen laut früher angegebenen Methoden bestimmt. Die Assimilationsintensität und der Chlorophyllgehalt beziehen sich wie früher auf gleiche Mengen Algen in Kontrolle und Ascorbinsäurekultur. Eine extra Ertragsbestimmung wurde nach neun Tagen gemacht, s. u. Um genügende Mengen Material schon nach sechs Tagen erhalten zu können, wurden drei Kulturen zu einer vereinigt. Die Versuchsergebnisse sind in den Tabellen 75—79 sowie in Abbildung 9 wiedergegeben. Die Assimilationszahl wurde ausgedrückt als das Verhältnis zwischen mm³ O₂ und dem Chlorophyllgehalt, wobei der Chlorophyllgehalt der Kontrolle=1 gesetzt wurde. Tabelle 79 enthält eine Zusammenfassung des ganzen Versuches.

Nach sechs Tagen ergab sich folgendes Resultat (Tabelle 75 und 76). Die Assimilationszahlen für Ascorbinsäurekultur und Kontrolle zeigten gute Übereinstimmung (75,5 und 74,1 bzw. 56,2 und 59,4). Das Verhältnis zwischen der Assimilation der Ascorbinsäurekultur und der der

Tabelle 75. Der Zusammenhang zwischen Assimilation, Chlorophyllgehalt und Wachstum. *Scenedesmus obliquus*. Alter der Kultur 6 Tage (Versuch 45). Assim. = Assimilation; A.S.-Kult. = Ascorbinsäurekultur.

Zeit in Minuten	Kontrolle			Ascorbinsäurekultur			Reelle Assim. A.S.-Kult. Kontrolle	Chlorophyll A.S.-Kult. Kontrolle	Assimilationszahl A.S.-Kultur Kontrolle	Ertrag A.S.-Kult. Kontrolle	pH
	Apparente Assim. mm ³ O ₂	Atmung mm ³ O ₂	Reelle Assim. mm ³ O ₂	Apparente Assim. mm ³ O ₂	Atmung mm ³ O ₂	Reelle Assim. mm ³ O ₂					
15	78,3	4,4		104,3	4,5		1,3 : 1	1,3 : 1	75,5	1,3 : 1	A.S.-Kult. = 6,8 Kontrolle = 7,0
15	72,5	5,8		98,3	6,0						
15	68,2	4,4		92,4	6,0						
15	58,0	4,4		76,0	4,5						
15; Mittelwerte	69,3	4,8	74,1	92,8	5,3	98,1					

Tabelle 76. Der Zusammenhang zwischen Assimilation, Chlorophyllgehalt und Wachstum. *Scenedesmus obliquus*. Alter der Kultur 6 Tage (Versuch 45). Assim. = Assimilation; A.S.-Kult. = Ascorbinsäurekultur.

Zeit in Minuten	Kontrolle			Ascorbinsäurekultur			Reelle Assim. A.S.-Kult. Kontrolle	Chlorophyll A.S.-Kult. Kontrolle	Assimilationszahl A.S.-Kultur Kontrolle	Ertrag A.S.-Kult. Kontrolle	pH
	Apparente Assim. mm ³ O ₂	Atmung mm ³ O ₂	Reelle Assim. mm ³ O ₂	Apparente Assim. mm ³ O ₂	Atmung mm ³ O ₂	Reelle Assim. mm ³ O ₂					
15	55,1	5,8		83,4	7,5		1,4 : 1	1,5 : 1	56,2	1,4 : 1	A.S.-Kult. = 6,9 Kontrolle = 7,0
15	53,7	5,8		80,5	7,5						
15	55,1	2,9		76,0	4,5						
15	53,1	5,8		71,5	6,0						
15; Mittelwerte	54,3	5,1	59,4	77,9	6,4	84,3					

Tabelle 77. Der Zusammenhang zwischen Assimilation, Chlorophyllgehalt und Wachstum. *Scenedesmus obliquus*. Alter der Kultur 14 Tage (Versuch 45). Assim. = Assimilation; A.S.-Kult. = Ascorbinsäurekultur.

Zeit in Minuten	Kontrolle			Ascorbinsäurekultur			Reelle Assim. A.S.-Kult. Kontrolle	Chlorophyll A.S.-Kult. Kontrolle	Assimilationszahl A.S.-Kultur Kontrolle	Ertrag A.S.-Kult. Kontrolle	pH
	Apparente Assim. mm ³ O ₂	Atmung mm ³ O ₂	Reelle Assim. mm ³ O ₂	Apparente Assim. mm ³ O ₂	Atmung mm ³ O ₂	Reelle Assim. mm ³ O ₂					
15	46,2	4,5		66,7	2,9		1,4 : 1	1,4 : 1	47,7	1,4 : 1	A.S.-Kult. = 6,4 Kontrolle = 7,1
15	46,2	1,5		65,3	1,5				48,4		
15	46,2	1,5		63,8	1,5						
15	44,7	3,0		63,8	1,5						
15; Mittelwerte	45,8	2,6	48,4	64,9	1,9	66,8					

Tabelle 78. Der Zusammenhang zwischen Assimilation, Chlorophyllgehalt und Wachstum. *Scenedesmus obliquus*. Alter der Kultur 13 Tage (Versuch 45). Assim. = Assimilation; A.S.-Kult. = Ascorbinsäurekultur.

Zeit in Minuten	Kontrolle			Ascorbinsäurekultur			Reelle Assim. A.S.-Kult. Kontrolle	Chlorophyll A.S.-Kult. Kontrolle	Assimilationszahl A.S.-Kultur Kontrolle	Ertrag A.S.-Kult. Kontrolle	pH
	Apparente Assim. mm ³ O ₂	Atmung mm ³ O ₂	Reelle Assim. mm ³ O ₂	Apparente Assim. mm ³ O ₂	Atmung mm ³ O ₂	Reelle Assim. mm ³ O ₂					
15	28,3	3,0		45,0	2,9		1,5 : 1	1,7 : 1	27,3	1,2 : 1	A.S.-Kult. = 6,5 Kontrolle = 7,1
15	29,8	2,0		45,0	2,0				31,6		
15	29,8	2,0		45,0	2,0						
15	28,3	3,0		40,6	2,9						
15; Mittelwerte	29,1	2,5	31,6	43,9	2,5	46,4					

Tabelle 79. Der Zusammenhang zwischen Assimilation, Chlorophyllgehalt und Wachstum. *Scenedesmus obliquus*. Zusammenfassung der Tab. 75—78 (Versuch 45; Abb. 9). Die Zahlen sind Mittelwerte.

Zeit in Tagen	6	9	14
Reelle Assimilation, A.S.-Kultur/Kontrolle . . .	1,4 : 1	—	1,5 : 1
Chlorophyllgehalt, A.S.-Kultur/Kontrolle	1,4 : 1	—	1,6 : 1
Ertrag, A.S.-Kultur/Kontrolle	1,4 : 1	1,6 : 1	1,3 : 1
pH in der A.S.-Kultur	6,9	6,8	6,5
pH in der Kontrolle	7,0	7,0	7,1

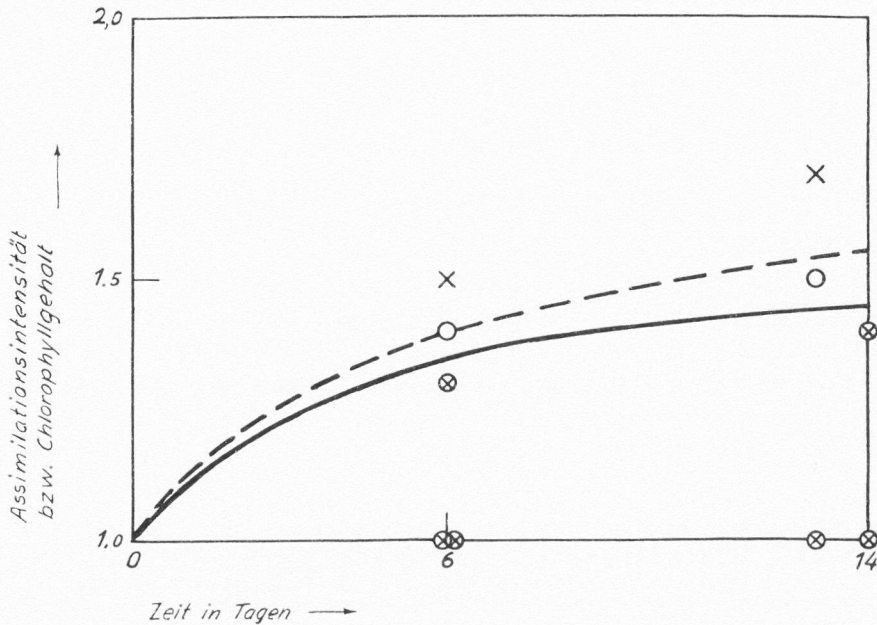


Abb. 9. Das Verhältnis zwischen der Assimilationsintensität in einer Ascorbinsäurekultur und in einer ascorbinsäurefreien Kontrolle zu verschiedenen Zeitpunkten nebst entsprechenden Werten des Chlorophyllgehaltes. Die Assimilationsintensität und der Chlorophyllgehalt der Kontrolle sind zu jedem Zeitpunkt gleich 1 gesetzt und die entsprechenden Werte der Ascorbinsäurekulturen im Verhältnis hierzu berechnet worden. Die Abszisse gibt die Zeit in Tagen, die Ordinate die Assimilationsintensität bzw. den Chlorophyllgehalt in relativem Mass an. ○ — — — — ○ = Assimilationsintensität; × — — — — × = Chlorophyllgehalt (Versuch 45, Tabellen 75—79).

Kontrolle sowie entsprechende Werte für Chlorophyllgehalt und Ernteertrag waren in sämtlichen Fällen 1,4 : 1 (Mittelwerte, Tabelle 79). Das pH der Ascorbinsäurekulturen hat indessen schon zu sinken begonnen. Da man auf Grund der so schnell eintretenden pH-Verschiebung vermuten konnte, dass die Differenz im Ertrag klein ausfallen und bald kulminieren würde, wurde eine extra Ertragsbestimmung nach neun Tagen ausgeführt. Das Verhältnis betrug in diesem Zeitpunkt 1,6 : 1 und war, wie sich später herausstellen sollte, maximal.

Nach vierzehn Tagen ist in den Ascorbinsäurekulturen eine kleinere Erhöhung sowohl der Assimilationsintensität wie des Chlorophyllgehaltes eingetreten (Tabelle 77 und 78 sowie die Mittelwerte in Tabelle 79). Die Assimilationszahlen zeigen fortwährend gute Übereinstimmung. Das Verhältnis zwischen dem Ertrag in der Ascorbinsäurekultur und dem in der Kontrolle war nun nur 1,3 : 1.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass ein Zusammenhang zwischen Assimilation und Chlorophyllgehalt festgestellt werden kann, indem direkte Proportionalität vorliegt. Die durch Ascorbinsäure veranlasste Erhöhung des Chlorophyllgehaltes bewirkt also eine Erhöhung der Assimilationsintensität. Auch ein Zusammenhang zwischen Ertrag einerseits sowie Assimilation und Chlorophyllgehalt andererseits scheint zu Beginn vorzuliegen. Bald kommt es in den Ascorbinsäurekulturen jedoch zu Veränderungen, die auf das Wachstum hemmend wirken: die Parallelität zwischen Wachstum und Assimilation hat nur während eines begrenzten Zeitabschnittes Gültigkeit. Vgl. auch Versuch 36, Tab. 48 sowie Abb. 8.

9. Ascorbinsäure bei mixo- und heterotropher Ernährung.

Aus dem vorstehenden Abschnitt 8 geht hervor, dass die Wirksamkeit der Ascorbinsäure an die Chlorophyllbildung gebunden ist. Aus diesem Grund ist zu erwarten, dass ihr Effekt bei mixotropher Ernährung herabgesetzt sein wird. Bei Heterotrophie schliesslich soll er ganz ausbleiben. Es wurde eine Reihe von Versuchen über die Wirkung der Ascorbinsäure bei Mixo- und Heterotrophie mit einer Bestimmung des Ascorbinsäuregehaltes der Algen bei verschiedenen Ernährungsbedingungen eingeleitet.

Versuch 46. Der Gehalt der Algen an Ascorbinsäure bei autotropher Ernährung. Nährlösung A mit pH 7,0. Kolben von 500 ml mit 200 ml Lösung in jedem. Versuchszeit 30—35 Tage.

Am Ende des Versuches wurden die Algen abzentrifugiert und darauf in 50 ml Aq. bidest. aufgeschlämmt. Nach gründlichem Umschütteln wurde die Suspension in zwei gleichgrosse Hälften geteilt. Die eine derselben diente zur Trockensubstanzbestimmung, die andere zur Bestimmung des Ascorbinsäuregehaltes.

Trockensubstanzbestimmung. Die Algen wurden in einen getrockneten und gewogenen Filtertiegel (G 4) abfiltriert. Waschen mit Aq. bidest., darauf Trocknen bei 105° C bis zu konstantem Gewicht.

Ascorbinsäurebestimmung. Die Algensuspension wurde zentrifugiert und die Algen in 20 ml 2,5 %-iger Metaphosphorsäure aufgeschlämmt und etwa 1/2 Stunde mit Quarzsand zerrieben. Nach einer weiteren halben Stunde wurde durch ein Saugfilter dekantiert. Hierauf wurde abermals 20 ml Metaphosphorsäure zugesetzt. Erneutes Reiben etwa 1/4 Stunde. Dann wurden Quarzsand+Algen auf ein Filter gebracht und mit 20 ml Metaphosphorsäure gewaschen. Das Filtrat war etwas opaleszierend, was indessen die folgende Titration nicht nennenswert störte. Diese wurde mit 2,6 Dichlorphenol-indophenol ausgeführt (0,05 g Indikator je 100 ml Lösung). Die Extraktion durch Reibung mit Sand gab höhere Werte als eine Extraktion mit kochend heisser Metaphosphorsäure. Der Ascorbinsäuregehalt wurde in mg Ascorbinsäure je g Trockensubstanz berechnet. Tabelle 80.

Die Übereinstimmung zwischen den beiden parallelen Serien ist nicht immer besonders gut, was wahrscheinlich auf die Schwierigkeit, die Ascorbinsäure vollständig zu extrahieren, zurückzuführen ist. Die Zahlen sind jedoch von gleicher Grössenordnung. Es ist offenbar, dass die Algen das Vermögen besitzen, wenigstens

Tabelle 80. Der Gehalt der Algen an Ascorbinsäure bei autotropher Ernährung (Versuch 46).

Kultur Nr.	mg Ascorbinsäure je g Trockensubstanz		g Trockensubstanz	
	1	2	1	2
<i>Chlorella</i> sp. A	5,3	—	0,0070	—
<i>Chlorella vulgaris</i> B	49,3	55,0	0,0104	0,0072
<i>Ankistrodesmus falcatus</i>	21,2	17,6	0,0128	0,0119
<i>Scenedesmus obliquus</i>	30,5	15,2	0,0134	0,0152
<i>Scenedesmus dimorphus</i>	32,2	34,7	0,0105	0,0114
<i>Scenedesmus acuminatus</i>	24,8	12,4	0,0066	0,0125
<i>Scenedesmus acutiformis</i>	31,5	52,6	0,0082	0,0101
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	19,7	22,0	0,0159	0,0190
<i>Stichococcus bacillaris</i>	20,2	11,2	0,0100	0,0080

Tabelle 81. Der Gehalt der Algen an Ascorbinsäure bei heterotropher Ernährung (Versuch 47).

	mg Ascorbinsäure je g Trockensubstanz	g Trockensubstanz
<i>Chlorella vulgaris</i> B	0	0,0844
<i>Chlorella vulgaris</i> B	0	0,0916
<i>Scenedesmus obliquus</i>	0	0,0173
<i>Scenedesmus dimorphus</i>	0	0,0148
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	0	0,0467
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	0	0,0540
<i>Stichococcus bacillaris</i>	0	0,0030

einen Teil ihres Ascorbinsäurebedarfes selbst zu synthetisieren.

Versuch 47. Der Gehalt der Algen an Ascorbinsäure bei heterotropher Ernährung. Nährlösung A, pH 7,0, wurde mit Glukose in der Konzentration 10 g je l versetzt. Erlenmeyerkolben von 1 Liter mit 500 ml Lösung in jedem. Dunkel. Versuchszeit 30—35 Tage. Tabelle 81.

Am Ende des Versuches wurden Trockensubstanz und Ascorbinsäuregehalt wie in Versuch 46 bestimmt. Trotzdem die Menge Trockensubstanz in mehreren Fällen grösser ist als in Versuch 46, konnte in den Algen keine Ascorbinsäure nachgewiesen werden.

Versuch 46 und 47 bestätigen die Annahme, dass die Ascorbinsäure in ihrer Wirksamkeit an die Assimilation und an das Licht geknüpft ist. Fortgesetzte Versuche über den Effekt von Vitamin C bei mixo- und heterotropher Ernährung liefern weitere Beweise hierfür.

Versuch 48. Die Wirkung von Ascorbinsäure bei mixo- und heterotropher Ernährung (Glukose). Nährlösung A, pH 7,0, wurde mit Glukose zu 10 g je l versetzt. Diese Lösung wurde teils direkt, teils nach Zusatz von Ascorbinsäure in der Konzentration von 1 g je l verwendet. Licht und Dunkel. Das Wachstum wurde durch tägliche Beobachtungen verfolgt. Versuchszeit 12 Tage. Tabelle 82.

Bei mixotropher Ernährung machten sich die stimulierenden Wirkungen der Ascorbinsäure bei mehreren Arten geltend. *Chlorella vulgaris* B sowie *Scenedesmus obliquus* zeigten jedoch keine Ertragssteigerung. *Stichococcus bacillaris* wurde im Wachstum gehemmt.

Tabelle 82. Die Wirkung von Ascorbinsäure bei mixo- und heterotropher Ernährung; Glukose (Versuch 48). Anzahl Zellen je mm³.

Beleuchtungsverhältnisse	Licht		Dunkel	
	0	1	0	1
Ascorbinsäure in g je l				
<i>Chlorella sp. A</i>	1 900	4 100	450	300
	1 900	4 900	540	250
<i>Chlorella vulgaris B</i>	40 000	46 000	14 000	6 800
	41 000	47 000	16 000	6 700
<i>Ankistrodesmus falcatus</i>	190	860	560	330
	180	900	580	390
<i>Scenedesmus obliquus</i>	13 000	14 000	5 600	770
	13 000	13 000	4 600	470
<i>Scenedesmus dimorphus</i>	8 900	13 000	2 600	2 100
	8 900	15 000	3 900	3 500
<i>Scenedesmus acuminatus</i>	3 600	7 400	1 100	280
	3 800	6 900	1 600	610
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	3 400	5 200	1 400	320
	3 000	4 800	1 200	—
<i>Stichococcus bacillaris</i>	33 000	16 000	6 200	920
	32 000	15 000	6 300	760

Bei heterotropher Ernährung wirkt die Ascorbinsäure durchweg hemmend. Der Grad der Hemmung ist jedoch bei verschiedenen Arten sehr ungleich. Die Hemmung dürfte mit der pH-Senkung zusammenhängen. Diese betrug sowohl in den Licht- wie in den Dunkelkulturen 0,3 bis 0,4 Einheiten. Die pH-Verschiebung kann indessen nicht allein für das schlechtere Wachstum in den Ascorbinsäurekulturen bei heterotropher Ernährung verantwortlich gemacht werden, da ja die Lichtkulturen mit gleicher pH-Senkung den Kontrollen gleichgestellt oder überlegen sind.

Versuch 49. Die Wirkung von Ascorbinsäure bei mixo- und heterotropher Ernährung (Natriumazetat). Nährlösung A, pH 7,0, wurde mit Natriumazetat zu 1 g je l versetzt. Licht und Dunkel. Tägliche Kontrolle. Versuchszeit 12 Tage. Tabelle 83.

Bei mixotropher Ernährung wirkt die Ascorbinsäure stark stimulierend. Ausnahmen gibt es indessen (*Ankistrodesmus*, *Scenedesmus acuminatus*?, *Stichococcus*). Die Wirkungen der Ascorbinsäure übertreffen in mehreren Fällen jene, die man bei rein autotropher Ernährung erhält. Dies dürfte mit den pH-Verschiebungen zusammenhängen. Bei Anwesenheit von Azetat blieb nämlich die übliche pH-Senkung zufolge der puffernden Wirkung des Azetates (und der Phosphate) aus. Durch

Tabelle 83. Die Wirkung von Ascorbinsäure bei mixo- und heterotropher Ernährung; Natriumazetat (Versuch 49). Anzahl Zellen je mm³.

Beleuchtungsverhältnisse	Licht		Dunkel	
	0	1	0	1
Ascorbinsäure in g je l				
<i>Chlorella sp. A</i>	2 200 2 400	8 800 8 200	2 200 1 600	690 550
<i>Chlorella vulgaris B</i>	14 000 13 000	23 000 —	3 700 3 400	1 900 1 700
<i>Ankistrodesmus falcatus</i>	770 710	630 760	210 —	170 170
<i>Scenedesmus obliquus</i>	3 200 3 100	11 000 14 000	770 1 000	590 —
<i>Scenedesmus dimorphus</i>	3 000 3 400	10 000 11 000	1 200 1 000	1 100 1 300
<i>Scenedesmus acuminatus</i>	3 100 2 700	5 000 2 800	480 450	390 —
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	800 750	3 900 3 800	270 110	250 120
<i>Stichococcus bacillaris</i>	3 800 4 600	1 600 1 800	± ±	± ±

Verbrauch von Azetat-ionen wird die Lösung überdies alkalisch. Das pH war am Ende des Versuches unverändert 7,0. Der stimulierenden Wirkung der Ascorbinsäure wird hier also nicht durch eine Senkung entgegengewirkt, weshalb die Differenzen grösser ausfallen.

Im Dunkel hat die Ascorbinsäure nicht stimulierend gewirkt. In einigen Fällen (*Chlorella sp. A*, *Chlorella vulgaris B* sowie *Scenedesmus obliquus*) hat sie das Wachstum gehemmt, in anderen ist der Unterschied zwischen Kontrolle und Ascorbinsäurekultur unbedeutend oder ganz fehlend. Da das pH unverändert gleich 7,0 war, kann der Schluss gezogen werden, dass die Ascorbinsäure bei heterotropher Ernährung keine stimulierende Wirkung besitzt. Die hemmende Wirkung kann dem schädlichen Einfluss der Oxydationsprodukte zugeschrieben werden. Die Wirkung dieser Produkte scheint sich besonders markant bei *Chlorella vulgaris B* und *Scenedesmus obliquus* geltend zu machen, die als Hauptversuchsorganismen gedient haben. Bei verschiedenen anderen Arten scheinen sie eine untergeordnetere Rolle zu spielen.

Indessen muss auch damit gerechnet werden, dass die Ascorbinsäure in den Atmungsmechanismus eingreift und auf diesem Wege eine

Tabelle 84. Die Atmung der Ascorbinsäurekulturen. *Scenedesmus obliquus*. Alter der Kulturen 18 Tage (Versuch 50). A.S.-Kultur = Ascorbinsäurekultur.

	Kulturpaar Nr. 1			Kulturpaar Nr. 2		
	Atmung mm ³ O ₂	Atmung A.S.-Kultur Kontrolle	Zeit in Min.	Atmung mm ³ O ₂	Atmung A.S.-Kultur Kontrolle	Zeit in Min.
Kontrolle	26,1	1,1 : 1	60	13,1	1,4 : 1	60
A.S.-Kultur	29,8			17,9		
Kontrolle	26,1	1,1 : 1	60	16,0	1,3 : 1	60
A.S.-Kultur	28,3			20,9		
Kontrolle	26,1	1,0 : 1	60	16,0	1,2 : 1	60
A.S.-Kultur	26,8			19,4		
Kontrolle	56,6	1,1 : 1	120	33,4	1,2 : 1	120
A.S.-Kultur	61,1			41,7		

Hemmung herbeiführen kann. Um diese Möglichkeit zu prüfen, wurde folgender Versuch angestellt.

Versuch 50. Die Atmung der Ascorbinsäurekulturen. Chlorella vulgaris B wurde in Nährlösung A kultiviert, die 10 g Glukose sowie 1 g Ascorbinsäure je l enthielt. Kontrolle ohne Ascorbinsäure. 150 ml Kolben mit 50 ml Lösung in jedem. Dunkel. Nach 16 Tagen wurde das Verhältnis zwischen dem Ertrag in Ascorbinsäurekulturen und demjenigen in Kontrollen bestimmt. Justierung zu gleicher Anzahl Zellen je Volumeinheit. Es wurden gleich grosse Volumen zentrifugiert, die Algen in Karbonatpuffer gewaschen sowie schliesslich im gleichen, mit Glukose (10 g je l) versetzten Puffer ausgeschlämmt. Die Atmung wurde im WARBURG-Apparat bestimmt. Tabelle 84.

Der Versuch zeigt, dass die Ascorbinsäurekulturen eine etwas stärkere Atmung haben als die Kontrollen (Vgl. auch BUKATSCH 1940). Die Ascorbinsäure hemmt demnach die Atmung nicht. Der Ernteertrag war in den Ascorbinsäurekulturen indessen kleiner als in den Kontrollen (0,6 : 1 bzw. 0,9 : 1). Man ist demnach berechtigt, anzunehmen, dass die Hemmung in den ersteren von anderen Faktoren abhängig ist, nämlich von der oben genannten pH-Senkung sowie den toxischen Oxydationsprodukten.

10. Besprechung der Versuchsergebnisse.

Die Ascorbinsäure hat bei sämtlichen untersuchten Chlorophyceen einen deutlich stimulierenden Effekt auf die Zellteilung gehabt. Die

Wirkungen sind indessen erst bei einer ziemlich hohen Konzentration, 1 g je l, zutage getreten. Niedrigere Konzentrationen haben im allgemeinen keine Ertragssteigerung verursacht.

ONDRATSCHEK (1940 a) fand die Konzentration 10—100 mg je l optimal für *Haematococcus*. Bei 1 g je l fand keinerlei Wachstum statt. Laut H. KYLIN (1942) war 1 mg je l eine optimale Konzentration für *Ulva* während der ersten Versuchstage. Nach 12 Tagen traten indessen die meisten Querwände bei 10 mg auf. Lösungen mit 100 und 200 mg je l wirkten anfangs hemmend. Der hemmende Effekt nahm indessen allmählich ab.

Versuche über den Nährwert der Ascorbinsäure zeigten eindeutig, dass sie nicht als Kohlenstoffquelle ausgenutzt werden konnte. Zu einem ähnlichen Resultat kam ONDRATSCHEK (1940 a). Ein Grund, die Säure als Stickstoffquelle zu prüfen, besteht nicht, da sie bekanntlich stickstofffrei ist. Der vermehrungsanregende Effekt der Ascorbinsäure ist demnach spezifischer Natur. Eine Untersuchung über die Stabilität der Ascorbinsäure lieferte die Erklärung, weshalb sie nur in der höchsten Konzentration wirksam war. Es zeigte sich nämlich, dass die Ascorbinsäure in verdünnten Lösungen schnell oxydiert wird.

Schon in den orientierenden Versuchen konnte in den Ascorbinsäurelösungen eine während der Versuchszeit eintretende pH-Senkung festgestellt werden. Die Erscheinung wurde mit der Oxydation der Säure in Zusammenhang gebracht. Da das Wachstum mit fallendem pH abnimmt, muss angenommen werden, dass dem günstigen Effekt der Ascorbinsäure durch die im Verlauf des Versuches eintretende pH-Senkung entgegengearbeitet wird. In einer ungepufferten Lösung war diese auch hinlänglich, um jedes Wachstum zu verhindern.

Es scheint mir, als ob die in einer Ascorbinsäurelösung auftretende pH-Senkung von ONDRATSCHEK (1940 a) nicht berücksichtigt worden sei. Da ONDRATSCHEK mit ungepufferten Lösungen arbeitete, musste, wenigstens in Kulturen mit 0,1 und 1 g Ascorbinsäure je l, eine beträchtliche pH-Senkung eingetreten sein. Wahrscheinlich war die pH-Senkung in der höchsten Konzentration die unmittelbare Ursache dafür, dass die Algen zugrundegingen.

H. KYLIN (1942) beobachtete in Lösungen mit 0,1 und 0,2 g Ascorbinsäure je l vom zweiten Versuchstag an eine pH-Senkung. Die Lösung mit 0,2 g Ascorbinsäure zeigte folgende Werte: 8,2, 7,8, 7,6, 7,6, 7,8, 7,8, 7,8, 8,0, 8,2. Da KYLIN mit marinen Algen arbeitete, muss damit gerechnet werden, dass die Nährlösung zufolge des Gehaltes des Meer-

wassers an Karbonat und Bikarbonat eine nicht geringe Pufferkapazität besessen hat. Nichtsdestoweniger trat eine auffallende pH-Senkung ein. Da die Lösungen nicht steril waren, traten in den Kulturen sowohl Bakterien wie Infusorien auf. »Es ist möglich, dass die bei der Verwesung gebildete Kohlensäure die Entwicklung der Keimlinge etwas verlangsamt hat, in erster Linie beruht indessen die langsamere Entwicklung in den Lösungen mit 0,01 und 0,02 % Ascorbinsäure auf die Giftwirkung der in zu grosser Menge vorhandenen Ascorbinsäure.« Ich halte es jedoch für wahrscheinlich, dass die eintretende pH-Senkung wenigstens teilweise auf die im Zusammenhang mit der Oxydation der Ascorbinsäure steigende Azidität zurückzuführen ist, sowie dass diese nebst den bei der Oxydation auftretenden wachstumshemmenden Substanzen das geringe Wachstum verursacht haben. Eigene Versuche sprechen nämlich dafür, dass die Ascorbinsäure keine Giftwirkung besitzt. Die gegen Ende des Versuches zunehmenden pH-Werte können mit der Wirkung der Bakterien in Zusammenhang gebracht werden.

Eigene Untersuchungen zeigten, dass der Unterschied zwischen Ascorbinsäurekulturen und Kontrollen etwa am zehnten bis zwölften Tag maximal war. Hierauf nahm die Differenz wieder ab, da die Ascorbinsäurekulturen ihr Wachstum fast ganz einstellten. Die Ursache der Hemmung in den Ascorbinsäurekulturen ist in der oben erwähnten pH-Verschiebung zu suchen. Ausserdem haben die bei der Oxydation der Ascorbinsäure gebildeten Zerfallsprodukte eine toxische Wirkung.

Die Oxydation der Ascorbinsäure ist ein sehr komplizierter Prozess, der entweder spontan verlaufen (Autoxydation) oder auch durch unbedeutende Mengen Kupfer oder Eisen katalysiert werden kann. Als ein erstes Oxydationsprodukt tritt Dehydroascorbinsäure auf. Diese Oxydation ist reversibel, und die Dehydroascorbinsäure hat dieselben physiologischen Wirkungen wie Ascorbinsäure (BORSOOK, DAVENPORT, JEFFREYS und WARNER 1937). Die Dehydroascorbinsäure erfährt indessen bald eine neue, irreversible, nicht oxydative Veränderung, wobei Diketogulonsäure gebildet wird. Sämtliche Substanzen sind Säuren, aber mit verschiedenen Dissoziationskonstanten, weshalb die Umwandlung mit einer Veränderung des pH der Lösung verknüpft ist. pK ist für die Ascorbinsäure 4,2, für die Dehydroascorbinsäure 9,0 und für die Diketogulonsäure ungefähr 3,3. Die Werte geben eine befriedigende Erklärung für die in den Nährlösungen auftretenden pH-Verschiebungen. Bei der weiteren Oxydation wird aus Diketogulonsäure entweder direkt oder über ein Zwischenprodukt Threonsäure und Oxalsäure ($pK_1=1,4$) ge-

bildet. In alkalischer Lösung kann die Oxydation noch weiter gehen, wobei wahrscheinlich die Threonsäure oxydiert wird.

Welches von den Zerfallsprodukten der Ascorbinsäure das Wachstum hemmt, darüber können nur Vermutungen geäußert werden. Die Dehydroascorbinsäure darf man ausschliessen. Unter den übrigen Substanzen ist die Oxalsäure leicht nachzuweisen. Die Ascorbinsäurelösungen enthielten aber noch nach einem Monat nur unbedeutende Mengen dieser Säure. Ausserdem hat sich die Oxalsäure als eine ausserordentlich gute Kohlenstoffquelle für Grünalgen herausgestellt (NAKANO 1917). Es ist daher zweifelhaft, ob die Hemmungen von dieser bedingt werden. CARTENI und MORELLI (1937) erhielten in Oxydationsversuchen mit Ascorbinsäure bei verschiedenem pH Oxalsäure in nachweisbaren Mengen schon nach einigen Stunden. In diesem Fall handelte es sich aber um eine von Kupferionen katalysierte Reaktion. In meinen Nährlösungen wird die Oxydation mit aller Wahrscheinlichkeit von Eisen katalysiert: die Nährlösungen sind Fe-haltig und arm an Cu (Aq. bidest.). Für eine Fe-Katalyse spricht ferner der Umstand, dass die Ascorbinsäure von Ortophosphat stabilisiert wird (GOLDSTEIN und KACHEROVA 1940). Es muss damit gerechnet werden, dass die Endprodukte bei der Fe- und bei der Cu-Katalyse nicht vollkommen identisch sind.

Ob die Diketogulonsäure und die Threonsäure das Wachstum hemmen, entzieht sich gegenwärtig der Beurteilung. HOLTZ und TRIEM (1937) konnten dagegen zeigen, dass eine mit Sauerstoff behandelte Ascorbinsäurelösung erhebliche Mengen von Peroxyden enthält. Laut EKMAN (1944) kann das Vermögen der Ascorbinsäure, zyklische Verbindungen *in vitro* zu oxydieren, durch Wasserstoffperoxydbildung bei der eigenen Oxydation der Ascorbinsäure erklärt werden. Es ist nicht unwahrscheinlich, dass Peroxyde für die in den Kulturversuchen mit Ascorbinsäure auftretenden Wachstumshemmungen verantwortlich sind.

Dagegen ist die Ascorbinsäure an und für sich nicht giftig. Noch in der Konzentration von 10 g je l konnte bei *Chlorella* in einer stark gepufferten Lösung ein maximaler Effekt beobachtet werden. Auch in tierphysiologischen Versuchen hat man keine Giftwirkung des Vitamins gefunden (LEHNARTZ 1942). Wird Ascorbinsäure in allzu grossen Dosen verabreicht, so wird der Überschuss mit Schweiss und Harn ausgeschieden, ohne dass schädliche Wirkungen beobachtet werden können.

Durch Untersuchungen von u.a. v. HAUSEN (1936) ist gezeigt worden, dass es einen Zusammenhang zwischen dem Wachstum einerseits

und dem Gehalt der Pflanzen an Ascorbinsäure andererseits gibt. Durch einen Zusatz von Ascorbinsäure zu sterilen Kulturen von Erbsen konnte eine Zunahme der Länge der Pflanzen und der Trockensubstanzproduktion herbeigeführt werden. Der Effekt war während früheren Entwicklungsstadien besonders auffallend. Die Ascorbinsäure konnte nicht durch Glukose ersetzt werden, was zeigt, dass sie eine spezifische Wirkung hat.

In den grünen Pflanzen kommt Ascorbinsäure sehr reichlich in den chlorophyllführenden Teilen vor. Desgleichen sind autotrophe Pflanzen reicher an Ascorbinsäure als heterotrophe (GIROUD, RATSIMAMANGA und LEBLOND 1934). Es konnte überhaupt häufig eine Parallelität zwischen dem Vorkommen von Ascorbinsäure und Chlorophyll festgestellt werden. NEUBAUER (1939) hat eine Übersicht über die Literatur auf diesem Gebiete mitgeteilt. Selbst konnte NEUBAUER die von GIROUD und Mitarbeitern (1934) gemachten Beobachtungen bestätigen. Laut MOLDTMANN (1939) fehlte in Pilzen, *Latraea*, *Orobanche* und fertilen Zweigen von *Equisetum* die Ascorbinsäure. Die Teile von *Ricinus*, die den grössten Chlorophyllgehalt hatten, enthielten auch die meiste Ascorbinsäure. Weisse Blätter und Blatteile von *Acer negundo* und *Pelargonium* hatten einen niedrigeren Ascorbinsäuregehalt als grüne. Chlorophyllarme Mutanten von *Antirrhinum* zeigten jedoch einen höheren Gehalt als die normalen Formen. WEBER (1941), der panachierte Blätter untersuchte, fand fast durchweg einen höheren Ascorbinsäuregehalt in den grünen als in den weissen Teilen. Obgleich es Ausnahmen gibt, ist man auf Grund der in der Literatur vorliegenden Angaben berechtigt, den Schluss zu ziehen, dass chlorophyllreiche Pflanzenteile im allgemeinen auch ascorbinsäurereich sind.

In ähnlicher Weise hat man Parallelität zwischen dem Gehalt an Carotinoiden und dem an Ascorbinsäure festgestellt (GIROUD, RATSIMAMANGA und LEBLOND 1935). Auch NEUBAUER (1939) konnte einen solchen Zusammenhang in Blättern von *Selaginella* und *Taxus* finden.

Auf Grund der Parallelität zwischen dem Chlorophyll- und Carotinoidgehalt einerseits und dem Ascorbinsäuregehalt andererseits hat man versucht, das Vorkommen von Ascorbinsäure mit der Assimilation in Zusammenhang zu bringen. Dass ein solcher Zusammenhang zweifellos besteht, zeigte MOLDTMANN (1939). Mit zunehmender Lichtintensität und damit erhöhtem Kohlensäureverbrauch stieg auch die Ascorbinsäuremenge. Bei erhöhtem Kohlensäuregehalt der Luft stiegen die Assimilationsintensität und der Ascorbinsäuregehalt. BUKATSCH (1939) untersuchte die Assimilation von Wasserpflanzen, u.a. *Fontinalis*,

Elodea und *Spirogyra*, die während 6—48 Stunden mit Ascorbinsäure behandelt worden sind. Es konnte eine auffallende Zunahme der Assimilationsintensität beobachtet werden. Auch Blätter von Landpflanzen zeigten nach Ascorbinsäurebehandlung eine erhöhte Assimilation.

So lange man nur eine Parallelität zwischen Chlorophyllgehalt, Assimilation und Ascorbinsäuregehalt festgestellt hat, erscheint es nicht möglich, sich eine Auffassung darüber zu bilden, wie die verschiedenen Erscheinungen sich gegenseitig beeinflussen. Folgende Möglichkeiten bestehen. 1) Hoher Chlorophyllgehalt und grosse Assimilationsintensität sind das Primäre. Hoher Ascorbinsäuregehalt ist eine Folge der intensiven Assimilation. Die Ascorbinsäure ist ein »passives« Assimilationsprodukt, das durch Umwandlung von z.B. Glukose entsteht. Für die Richtigkeit dieser Annahme spricht der Umstand, dass die Menge der Ascorbinsäure mit steigendem Kohlensäureverbrauch zunimmt, sowie dass ein gewisser Zusammenhang zwischen Glukosegehalt und Ascorbinsäuregehalt wenigstens bei den Monokotyledonen zu bestehen scheint (MOLDTMANN 1939). Wenn die Ascorbinsäure tatsächlich ein passives Assimilationsprodukt ist, so kann man nicht erwarten, dass künstlich zugeführte Ascorbinsäure auf den Chlorophyllgehalt oder auf die Assimilation einen positiven Effekt haben soll. 2) Das Vermögen, in grosser Menge Ascorbinsäure zu synthetisieren, ist das Primäre. Die Ascorbinsäure greift entweder direkt in den Assimilationsprozess ein und intensiviert diesen oder beeinflusst denselben indirekt, z.B. via die Chlorophyllbildung. Für ein direktes Eingreifen in den Assimilationsprozess spricht der oben referierte Versuch von BUKATSCH (1939), in dem die Ascorbinsäure nach 6—48 Stunden wirksam war. In Modellversuchen konnte dieser Verfasser zeigen, dass eine mit einer Emulsion von chlorophyllhaltigem Lecithin versetzte Ascorbinsäurelösung bei Beleuchtung Kohlensäure unter Bildung von Formaldehyd zu reduzieren vermochte. Gegen eine Beeinflussung über die Chlorophyllbildung spricht ferner die mangelhafte Übereinstimmung zwischen Chlorophyllgehalt und Assimilationsintensität, die WILLSTÄTTER und STOLL (1918) haben nachweisen können. Im allgemeinen scheint das Chlorophyll im Überschuss vorhanden zu sein. Die Methode von WILLSTÄTTER und STOLL ist indessen von EMERSON (1929) kritisiert worden. Wenn Blätter als Versuchsmaterial verwendet werden, sind solche Untersuchungen mit grossen Fehlerquellen behaftet. Selbst hat EMERSON mit *Chlorella vulgaris* mit verschiedenem Chlorophyllgehalt gearbeitet. Die Versuche zeigten, dass direkte Proportionalität zwischen Assimilationsintensität und Chlorophyllgehalt bestand.

Eigene Untersuchungen zeigten, dass die in Ascorbinsäurelösung aufgezogenen Algen einen beträchtlich höheren Chlorophyllgehalt hatten als die in den entsprechenden Kontrollen. Dies bildet einen neuen Beweis dafür, dass hoher Ascorbinsäuregehalt und hoher Chlorophyllgehalt Hand in Hand gehen. Der Versuch zeigt indessen überdies, dass der hohe Ascorbinsäuregehalt das Primäre ist, die Zunahme des Chlorophyllgehaltes dagegen eine sekundäre Erscheinung. Eine andere Deutung ist im vorliegenden Fall undenkbar.

Nach der Behandlung von Algen mit Ascorbinsäure während 48 Stunden (Licht) wurde keine oder jedenfalls nur eine höchst unbedeutende Zunahme der Assimilation beobachtet. In Ascorbinsäurelösung aufgezogene Algen, die also einen hohen Chlorophyllgehalt hatten, zeigten eine Assimilation, die derjenigen in den entsprechenden Kontrollen weit überlegen war. Die Assimilationszahlen für die Ascorbinsäurekultur und die Kontrolle waren dagegen gleich gross. Es besteht demnach eine direkte Proportionalität zwischen Chlorophyllgehalt und Assimilation in Übereinstimmung mit den Untersuchungen von EMERSON (1929). Die Versuchsergebnisse zeigen, dass die Ascorbinsäure die Assimilation indirekt durch Erhöhung des Chlorophyllgehaltes beeinflusst.

Dass die Ascorbinsäure gerade in den Plastiden vorkommt, ist von WEIER (1938) und BUKATSCH (1940) nachgewiesen worden. Ob sie für die Chlorophyllbildung notwendig ist, erscheint jedoch zweifelhaft. Eigene Versuche zeigten, dass Algen, die im Dunkel in Glukoselösung aufgezogen worden sind, keine Ascorbinsäure in nachweisbaren Mengen enthielten. Sie waren trotzdem chlorophyllhaltig, wenn auch das Chlorophyll bedeutend schlechter ausgebildet war als bei autotropher Ernährung. Es erscheint möglich, dass die Ascorbinsäure in der oxydierten Form (Dehydroascorbinsäure) vorhanden gewesen ist. Auch GUNDERSON und SKINNER (1934) konnten indessen bei im Dunkel aufgezogenem *Chlorococcum* keine Vitamin-C-Wirkungen nachweisen (biologische Prüfung am Meerschweinchen). Trotzdem bildete die Alge Chlorophyll. Die Ascorbinsäure scheint demnach für die Chlorophyllsynthese nicht unerlässlich zu sein.

Laut LEMOIGNE und Mitarbeitern (1937) nimmt die Ascorbinsäure an der Nitratreduktion teil, indem sie Nitrit zu Hydroxylamin reduziert. Da eine erhöhte Stickstoffassimilation mit einer Zunahme des Chloro-

phyllgehaltes verbunden sein kann, ist es denkbar, dass die Ascorbinsäure auf diesem Weg die Chlorophyllbildung beeinflusst.

Die Ascorbinsäurekulturen zeigten nicht nur einen höheren Chlorophyllgehalt, sondern auch einen höheren Carotinoidgehalt als die entsprechenden Kontrollen. Auch der Carotinoidgehalt muss also von der Ascorbinsäure abhängig sein.

Unter autotrophen Bedingungen gezüchtete Algen enthielten beachtliche Mengen von Ascorbinsäure. Dies zeigt, dass sie selbst wenigstens einen Teil ihres Bedarfes an Vitamin C zu decken vermögen. Dass dieser Stoff trotzdem in suboptimaler Menge vorhanden ist, ergibt sich daraus, dass die Algen auf eine Zufuhr der Substanz von aussen mit einer Ertragssteigerung reagieren. Bei heterotropher Ernährung mit Glukose als Kohlenstoffquelle konnte dagegen, wie oben erwähnt worden ist, keine Ascorbinsäure nachgewiesen werden. Die Algen konnten demnach unter den herrschenden Verhältnissen Glukose nicht in Ascorbinsäure umwandeln.

Laut MOLDTMANN (1939) besteht bei den Monokotyledonen ein Zusammenhang zwischen Glukose- und Ascorbinsäuregehalt. Blätter, denen von aussen Glukose zugeführt wurde, erhöhten überdies ihren Gehalt an Ascorbinsäure. (Bei den Dikotyledonen wurde dagegen kein Zusammenhang zwischen dem Kohlehydratgehalt und der Ascorbinsäuremenge gefunden.) MOLDTMANN nimmt an, dass die Ascorbinsäure ein Assimilationsprodukt ist, das durch Umwandlung von Glukose entsteht, und dass die bei der Photosynthese gebildete Glukosemenge für die Ascorbinsäurebildung ausschlaggebend ist. Hierfür spricht laut MOLDTMANN der Zusammenhang des Ascorbinsäuregehaltes mit dem Chlorophyllgehalt und der Assimilationsintensität. Aus Vorstehendem ergibt sich, dass eine solche Auffassung mit den von mir erhaltenen Resultaten unvereinbar ist. Natürlich muss die Ascorbinsäure insofern als Assimilationsprodukt aufgefasst werden, als sie, gleichwie alle übrigen organischen Stoffe, aus bei der Photosynthese entstandenen Produkten gebildet wird. Dagegen ist sie nicht passiver Natur, sondern greift aktiv ein, indem sie die Chlorophyllbildung beeinflusst und hierdurch die Assimilationsintensität erhöht. Infolgedessen nehmen Trokensubstanzmenge und Wachstum zu.

Falls die Ascorbinsäure in dieser Weise an den Assimilationsprozess geknüpft ist, muss man mit Rechter erwarten, dass ihr positiver Effekt bei heterotropher Ernährung ausbleiben soll. Dies ist auch tatsächlich der Fall ge-

w e s e n. Bei Mixotrophie dagegen trat in mehreren Fällen ein stimulierender Effekt zutage, der besonders stark war, wenn die Glukose durch Natriumazetat ersetzt wurde. Dies beruhte indessen darauf, dass das Azetat zusammen mit den Phosphaten die schädliche pH-Senkung vollständig zu verhindern vermochte. Ausserdem muss damit gerechnet werden, dass die Ernährung bei Anwesenheit von Azetat (und Licht) überwiegend autotroph ist, bei Anwesenheit von Glukose (und Licht) dagegen überwiegend heterotroph. Versuch 11 und 16 zeigen nämlich, dass Glukose eine bedeutend bessere Kohlenstoffquelle ist als Azetat. Laut ONDRATSCHEK (1940 a und b) ist die Ascorbinsäure in ihrer Wirksamkeit an autotrophe Ernährung gebunden. ONDRATSCHEKS Arbeiten sind in der einleitenden Literaturübersicht ausführlich besprochen worden.

Die Bedeutung des Lichtes für die Wirksamkeit der Ascorbinsäure geht ferner daraus hervor, dass eine Behandlung mit Ascorbinsäure während 48 Stunden im Dunkel auf die nachfolgende Assimilation von *Chlorella* hemmend wirkt. Eine entsprechende Behandlung im Licht war dagegen ohne einen solchen negativen Effekt. Über die Natur dieser Hemmung kann gegenwärtig nichts ausgesagt werden.

VII. Aneurin.

Gleichwie die Ascorbinsäure ist das Aneurin (Vitamin B₁) im Pflanzenreich weit verbreitet. Besonders bekannt ist der Aneuringehalt der Hefe. Auch chlorophyllführende Pflanzen enthalten indessen Vitamin B₁. Die Angaben über seine Wirkungen auf Algen sind, wie schon erwähnt, spärlich. In der Einleitung wurde eine Übersicht über die Literatur auf diesem Gebiet mitgeteilt.

1. Versuchsergebnisse.

Versuch 51. Die Wirkung von Aneurin in steigender Konzentration. Ein orientierender Versuch über das Konzentrationsgebiet wurde mit *Scenedesmus obliquus* ausgeführt. Nährlösung C wurde mit neutralisiertem Aneurinhydrochlorid, Merck, in den Konzentrationen 1, 10, 50, 100 und 200 mg je l versetzt. pH=7,0. Versuchszeit 14 Tage. Tabelle 85.

Die Alge zeigte eine Ertragssteigerung bei 10—50 mg je l. Die Steigerung war allerdings ziemlich unbedeutend, berechnete aber doch zu weiteren Versuchen mit einer grösseren Anzahl von Arten. Diese sind in ein paar verschiedenen Etappen ausgeführt worden. Die Ergebnisse sind trotz der Unterschiede hinsichtlich Licht und Temperatur in den untenstehenden Tabellen zusammengestellt worden. Beim Lesen derselben muss also beachtet werden, dass die verschiedenen Arten nicht miteinander vergleichbar sind. Dagegen sind die Werte für ein und dieselbe Art in einer bestimmten Tabelle stets unter identischen Bedingungen erhalten worden.

Versuch 52. Die Wirkung von Aneurin bei autotropher Ernährung. Grundlösung: Magnesiumsulfat 0,01 g, Kalziumsulfat 0,01 g, Ferrichlorid 0,001 g je l

Tabelle 85. Die Wirkung von Aneurin in steigender Konzentration (Versuch 51). *Scenedesmus obliquus*. Anzahl Zellen je mm³.

Aneurin mg je l	0	1	10	50	100	200
<i>Scenedesmus obliquus</i>	1 500	1 900	2 600	2 200	1 700	2 100
	1 300	1 800	2 100	2 100	—	1 800

Tabelle 86. Die Wirkung von Aneurin bei autotropher Ernährung (Versuch 52). Anzahl Zellen je mm³. Die Tabelle ist eine Zusammenstellung mehrerer Versuche.

Stickstoffquelle	KNO ₃		H ₄ NCl	
	0	10	0	10
Aneurin in mg je l				
<i>Chlorella</i> sp. A	130 140	160 190	180 190	160 200
<i>Chlorella vulgaris</i> B	4 000 4 000	2 800 3 100	4 400 4 100	3 800 3 500
<i>Ankistrodesmus falcatus</i>	140 200	260 350	230 190	300 360
<i>Scenedesmus obliquus</i>	2 400 2 100	2 000 1 700	1 600 2 000	1 600 2 300
<i>Scenedesmus dimorphus</i>	3 200 3 000	3 000 3 500	2 800 3 100	3 200 2 900
<i>Scenedesmus acuminatus</i>	1 400 1 400	1 400 1 800	1 200 1 500	1 700 1 300
<i>Scenedesmus acutiformis</i>	170 240	240 220	220 180	110 160
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	790 650	780 700	630 690	600 740
<i>Stichococcus bacillaris</i>	1 900 —	1 800 1 600	1 200 1 500	1 100 1 700

Lösung, Phosphatpuffer m/150, pH=6,5. Die Grundlösung wurde versetzt mit 1) Kaliumnitrat 0,1 g, 2) Kaliumnitrat 0,1 g + Aneurinhydrochlorid 10 mg, 3) Ammoniumchlorid 0,01 g, 4) Ammoniumchlorid 0,01 g + Aneurinhydrochlorid 10 mg, alles je 1 Lösung. Das Impfmateriale, das in kaliumnitratthaligen Lösungen aufgezogen worden war, wurde zentrifugiert und gleichwie in den folgenden Versuchen vor dem Impfen in Aq. bidest. aufgeschlämmt (sterile Bedingungen). Versuchszeit 15 Tage. Tabelle 86.

Das Aneurin hat zu keiner Erhöhung des Ernteertrages geführt. In diesen Versuchen reagierte auch *Scenedesmus obliquus* nicht auf den Aneurinzusatz. Eine Tendenz zu Erhöhung konnte vielleicht bei *Ankistrodesmus* vermerkt werden. Das Wachstum war indessen unregelmässig, wie so häufig bei dieser Alge.

Versuch 53. Die Wirkung von Aneurin bei mixo- und heterotropher Ernährung; Glukose. Gleiche Lösungen wie zu Versuch 52, aber die Grundlösung enthielt überdies Glukose in der Konzentration 10 g je l. Versuchszeit 12—14 Tage. Licht und Dunkel. Tabelle 87.

Bei mixotropher Ernährung liegt in einem Fall eine Tendenz zu Ertragssteigerung vor (*Scenedesmus quadricauda*). Die Unterschiede sind jedoch unbedeutend. Das Wachstum von *Ankistrodesmus* war

Tabelle 87. Die Wirkung von Aneurin bei mixo- und heterotropher Ernährung; Glukose (Versuch 53). Anzahl Zellen je mm³. Die Tabelle ist eine Zusammenstellung mehrerer Versuche.

Beleuchtungsverhältnisse	Licht				Dunkel			
	KNO ₃		H ₄ NCl		KNO ₃		H ₄ NCl	
Aneurin in mg je l	0	10	0	10	0	10	0	10
<i>Chlorella</i> sp. A	280 300	220 310	210 290	400 210	130 170	160 210	100 110	90 —
<i>Chlorella vulgaris</i> B	7 200	8 900	11 000	11 000	400	470	690	780
<i>Ankistrodesmus falcatus</i> . .	±	±	160	170	±	±	±	110
	±	±	±	200	±	±	±	85
<i>Scenedesmus obliquus</i> . .	3 000 3 600	5 500 3 900	5 700 5 600	6 900 8 100	870 880	1 700 1 700	1 200 1 100	2 200 2 100
<i>Scenedesmus dimorphus</i> .	24 000 18 000	14 000 13 000	—	—	8 300 7 900	7 600 4 600	—	—
<i>Scenedesmus acuminatus</i>	6 000 —	8 700 7 800	—	—	3 100 —	2 800 3 700	—	—
<i>Scenedesmus acutiformis</i>	1 400 1 500	1 800 1 500	—	—	1 400 1 500	1 700 2 000	—	—
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	550 —	670 710	640 820	1 100 1 300	100 100	190 160	110 110	110 150
<i>Stichococcus bacillaris</i> . .	4 800 4 700	5 700 6 300	6 500 6 800	7 500 7 500	1 200 960	1 500 1 400	1 300 1 400	2 100 1 800

durchweg gering. Bei heterotropher Ernährung hat *Scenedesmus obliquus* eine klar positive Reaktion gezeigt. Bei *Scenedesmus quadricauda* und *Stichococcus* kommt möglicherweise eine Tendenz zu Erhöhung vor, während *Ankistrodesmus* ein messbares Wachstum nur in der aneurinhaltigen Ammoniumchloridlösung zeigte.

Versuch 54. Die Wirkung von Aneurin bei mixo- und heterotropher Ernährung; Natriumazetat. Die gleichen vier Lösungen wie zu Versuch 52, aber die Grundlösung enthielt ausserdem Natriumazetat in der Konzentration 1 g je l. Versuchszeit 12—14 Tage und Dunkel. Tabelle 88.

Bei mixotropher Ernährung kommt nach Aneurinzusatz keine Ertragssteigerung vor. Bei heterotropher Ernährung zeigt nur *Scenedesmus obliquus* in den Nitratlösungen Unterschiede. In den Ammoniumchloridlösungen war dagegen der Ertrag in den Aneurinkulturen und in den Kontrollen gleich.

Tabelle 88. Die Wirkung von Aneurin bei mixo- und heterotropher Ernährung; Natriumazetat (Versuch 54). Anzahl Zellen je mm³. Die Tabelle ist eine Zusammenstellung mehrerer Versuche.

Beleuchtungsverhältnisse	Licht				Dunkel			
	KNO ₃		H ₄ NCl		KNO ₃		H ₄ NCl	
	0	10	0	10	0	10	0	10
<i>Chlorella sp. A</i>	170	140	110	120	±	±	±	±
	130	130	100	120	±	±	±	±
<i>Chlorella vulgaris B</i>	13 000	8 700	14 000	11 000	1 200	1 200	2 200	2 000
	14 000	9 400	12 000	10 000	900	1 200	2 200	2 600
<i>Ankistrodesmus falcatus</i>	±	±	±	±	±	±	±	±
	±	±	±	±	±	±	±	±
<i>Scenedesmus obliquus</i>	3 000	4 700	3 100	3 400	430	860	780	920
	3 700	3 800	2 900	3 600	280	680	910	980
<i>Scenedesmus dimorphus</i>	9 400	9 100	4 000	4 000	3 400	3 600	3 100	3 200
	9 100	9 400	3 800	4 600	3 000	3 700	3 100	3 100
<i>Scenedesmus acuminatus</i>	4 700	4 600	1 500	1 700	1 400	1 900	2 500	2 500
	6 100	5 900	1 700	1 500	1 600	1 900	2 800	2 700
<i>Scenedesmus acutiformis</i>	1 100	1 500	800	760	660	820	880	660
	1 000	1 600	770	920	670	780	970	940
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	2 500	2 400	2 100	2 100	±	±	±	±
	1 700	2 400	2 300	1 900	±	±	±	±
<i>Stichococcus bacillaris</i>	2 000	1 300	1 100	970	±	±	±	±
	1 500	1 600	1 600	—	±	±	±	±

2. Besprechung der Versuchsergebnisse.

Die untersuchten Chlorophyceen haben meistens nicht auf Aneurin reagiert, weder bei auto-, mixo- noch heterotropher Ernährung. Ab und zu kommt jedoch eine Tendenz zu Ertragssteigerung vor, und wenigstens in einem Fall (*Scenedesmus obliquus*) war der Effekt des Aneurins ziemlich augenscheinlich. Auch hier traten jedoch Unregelmäßigkeiten auf.

Aneurin bildet bekanntlich mit Pyrophosphorsäure eine Verbindung, die das Co-Ferment der Carboxylase darstellt. Hierdurch wird seine Notwendigkeit für den Kohlehydratstoffwechsel leicht verständlich. Die Versuche von ONDRATSCHEK (1940 a und b) zeigen, dass das Aneurin auch bei den chlorophyllführenden Mikroorganismen von Bedeutung für den Kohlehydratstoffwechsel ist. Andererseits deuten Ver-

suche mit Pilzen darauf hin, dass das Aneurin für die Stickstoffassimilation von Bedeutung ist. So konnte SCHOPFER (1939) zeigen, dass in *Phycomyces*-Kulturen ein bestimmter Zusammenhang zwischen dem Asparagin- und dem Aneurin Gehalt bestand. Laut BÜNNING (1934) förderte das Aneurin die Aufnahme von Nitratstickstoff bei *Aspergillus niger*, wogegen die Resorption von Ammoniumsalzen herabgesetzt war. In eigenen Versuchen ist es nicht möglich gewesen, die Wirkungen des Aneurins auf eine bestimmte Ernährungsweise oder einen gewissen Typus von Stickstoffquelle zu lokalisieren.

VIII. Zusammenfassende Übersicht.

Eine Übersicht über die Ernährungsphysiologie der Chlorophyceen im Hinblick auf die erhaltenen Resultate gestaltet sich leicht zu einem Vergleich zwischen Chlorophyceen und anderen Pflanzengruppen, wobei die höheren Pflanzen und die Pilze besondere Aufmerksamkeit erheischen. Da die meisten Daten entweder gut bekannt sind oder sich aus den vorstehenden Kapiteln ergeben, werden die Literaturhinweise auf ein Minimum beschränkt.

Gleichwie die höheren Pflanzen können die hier untersuchten Chlorophyceen, repräsentiert durch die Gattungen *Chlorella*, *Ankistrodesmus*, *Scenedesmus* und *Stichococcus*, organische stickstoffhaltige Verbindungen unter Ausnutzung von Nitrat oder Ammonium als Stickstoffquelle aufbauen. Das Nitrat kann hierbei sowohl im Licht wie im Dunkel ausgenutzt werden. Die Nitratreduktion im Dunkel ist ein durch Schwermetalle katalysierter Prozess (ALBERTS-DIETERT 1941), der mit der Respiration verknüpft ist. So zeigen die Chlorophyceen in dieser Hinsicht Übereinstimmung sowohl mit kohlenstoffheterotrophen Organen höherer Pflanzen (Weizenwurzeln, BURSTRÖM 1939 a, b) wie mit Pilzen (*Aspergillus*, STEINBERG 1937). Die Nitratassimilation im Licht ist dagegen wahrscheinlich eine photochemische Reaktion gleicher Beschaffenheit wie bei den höheren Pflanzen. Dass Ammoniumsalze in grosser Konzentration oder bei hohem pH für höhere Pflanzen giftig sind, ist eine wohlbekannte Erscheinung. In ähnlicher Weise verhalten sich Chlorophyceen. In niedriger Konzentration sind die Ammoniumsalze ausgezeichnete Stickstoffquellen, in hoher Konzentration sind sie toxisch. Die Pilze ziehen im allgemeinen Ammoniumsalze dem Nitrat vor.

Von organischen stickstoffhaltigen Verbindungen sind die Aminosäuren gute N-Quellen für Chlorophyceen. Sie werden unter Abspaltung von Ammoniak verwertet, das sich in der Nährlösung ansammelt und diese stark alkalisch machen kann. Ein grosses Desaminierungsvermögen besitzen die *Scenedesmus*-Arten, für die die Aminosäuren eine besonders gute Stickstoffquelle darstellen. In der Natur kommen die

Chlorophyceen häufig in Gewässern vor, die mehr oder weniger stark von organischen N-haltigen Substanzen verunreinigt sind. KOLKWITZ (1935) bezeichnet *Chlorella*, *Ankistrodesmus* und *Scenedesmus* als Mesosaprobien. Mesosaprobe Gewässer werden durch einen Abbau von hochmolekularen Verbindungen unter Bildung von Aminosäuren sowie später von Ammoniumsalzen charakterisiert. Sowohl höhere Pflanzen wie Pilze nutzen Aminosäuren unter Abspaltung von Ammoniak aus. Bei den Pilzen gleichwie bei den oben geprüften Algen kann im Nährsubstrat häufig ein Überschuss von Ammoniak nachgewiesen werden, wenigstens wenn die zur Verfügung stehende Kohlehydratmenge knapp ist. Bei den höheren Pflanzen, für die Ammoniak ein starkes Gift ist, wird es dagegen unter Bildung von Asparagin unschädlich gemacht. In diesem Zusammenhang ist zu beachten, dass Asparagin für Algen eine schlechtere Stickstoffquelle ist als sowohl Glykokoll wie Alanin. Dies ist umso bemerkenswerter, als Asparagin für Pilze und Bakterien eine ausserordentlich gute N-Quelle darstellt. Im Eiweiss-Stoffwechsel der Pflanzen nimmt diese Aminosäure eine zentrale Stellung ein. Im Vermögen, Pepton und Harnstoff auszunutzen, bestehen bei den Algen von Art zu Art grosse Abweichungen. So ist Pepton eine sehr gute N-Quelle für die *Scenedesmus*-Arten, während die *Chlorella*-Arten sich den Stickstoff desselben nicht zugutemachen können. Dass Pepton ein vorzüglicher Stickstoffnährstoff für Bakterien und Pilze ist, ist wohlbekannt. Dagegen wird Harnstoff im allgemeinen als eine schlechte N-Quelle für Mikroorganismen bezeichnet.

Im Vermögen, organisch gebundenen Stickstoff auszunutzen, liegen zwischen den *Scenedesmus*- und den *Chlorella*-Arten wesentliche Unterschiede vor. Die ersteren werden vor allem durch ihr grosses Desaminierungsvermögen und die im Zusammenhang hiermit stehende Fähigkeit, sich den Stickstoff in Aminosäuren und Pepton in hohem Grad zugutemachen zu können charakterisiert. Hierdurch erinnern sie an Pilze und Bakterien. Für die *Chlorella*-Arten ist der Aminostickstoff mit dem Nitratstickstoff höchstens gleichgestellt. Sie schliessen sich in dieser Hinsicht am nächsten an die höheren Pflanzen an.

In ihrer Kohlenstoffversorgung zeigen die Chlorophyceen Übereinstimmung sowohl mit den höheren Pflanzen wie mit den Pilzen. Gleichwie die ersteren sind sie chlorophyllführend und können das Kohlendioxyd der Luft unter Ausnutzung der Lichtenergie assimilieren. Bei Gegenwart von geeigneten organischen Nährstoffen gehen sie in dessen leicht zu einer kohlenstoffheterotrophen Ernährungsweise über. Unter organischen Kohlenstoffquellen nehmen die Zuckerarten den ersten

Platz ein. Die beste Kohlenstoffquelle ist Glukose, was auch zu erwarten ist, da dieses Kohlehydrat im Respirationsprozess ohne vorherige Umwandlungen verwertet werden kann. Galaktose steht indessen der Glukose im Nährwert nicht viel nach. Dies ist umso bemerkenswerter, als Galaktose von vielen anderen Pflanzen nur mit Schwierigkeit oder gar nicht verwertet werden kann. So vergärt Hefe Galaktose bedeutend langsamer als Glukose. Höhere Pflanzen scheinen Galaktose überhaupt nicht verwerten zu können.

Saccharose kann von den Chlorophyceen nur mit der grössten Schwierigkeit oder gar nicht ausgenutzt werden. Dass Saccharose für die Mehrzahl niedriger und höherer Pflanzen eine ausserordentlich gute Kohlenstoffquelle ist, braucht kaum hervorgehoben zu werden. Um verwertet werden zu können, muss sie indessen zuerst hydrolytisch gespalten werden, wobei Glukose und Fruktose gebildet werden. Die Annahme drängt sich auf, dass das Unvermögen der Algen, Saccharose zu verwerten, auf das Fehlen eines kohlehydratspaltenden Enzyms, Saccharase, zurückzuführen ist. U.a. können in der Aussenlösung keine Hexosen nachgewiesen werden. Weizenwurzeln können ebenfalls Saccharose nicht verwerten. Sie besitzen indessen das Vermögen, dieses Kohlehydrat zu spalten, wobei sie jedoch selbst durch ein bei der Hydrolyse gebildetes Nebenprodukt vergiftet werden. Die Ursache, warum die Algen Saccharose nicht verwerten können, ist demnach anderer Natur als bei den Weizenwurzeln.

Maltose ist eine gute Kohlenstoffquelle für Chlorophyceen, jedoch nicht mit Glukose vergleichbar. Sie wird nach allem zu urteilen ohne vorhergehende Hydrolyse verwertet. Maltose ist sowohl für Pilze wie für höhere Pflanzen günstig. Es liegen Angaben darüber vor, dass sowohl Hefe wie höhere Pflanzen dieses Kohlehydrat ohne vorherige Hydrolyse verwerten können.

Glycerin und Mannit sind als Kohlenstoffquelle für Chlorophyceen praktisch genommen wertlos. Für Pilze scheinen mehrwertige Alkohole einen grossen Nährwert zu besitzen, wobei jedoch ihre Verwandtschaft mit Glukose von ausschlaggebender Bedeutung ist. Je leichter sie sich in Glukose umwandeln lassen, umso bessere Kohlenstoffquellen sind sie.

Azetat bildet für die Mehrzahl der Chlorophyceen eine gute Kohlenstoffquelle. Hierin erinnern sie an die Flagellaten, unter denen sich viele gerade auf die Salze der Essigsäure spezialisiert haben. Dagegen sind Aminosäuren, Pepton und Harnstoff als C-Quelle untauglich. Pepton und Aminosäuren sind sonst dafür bekannt, für Mikroorganismen gleichzeitig als Kohlenstoff- und Stickstoffquelle dienen zu können. Unter den

Aminosäuren werden hierbei im allgemeinen jene mit der grösseren Anzahl Kohlenstoffatome vorgezogen, da ihr Wert als Kohlenstoffquelle mit steigendem Kohlenstoffgehalt zunimmt.

Laut neueren Untersuchungen von GAFFRON (1940) kann *Scenedesmus* bei Sauerstoffmangel und Anwesenheit von Wasserstoff letzteren unter Reduktion von Stoffwechselprodukten oder molekularem Sauerstoff absorbieren, wenn dieser in kleinen Mengen gegenwärtig ist. Hierdurch erinnert diese Alge an die Bakterien, für die solche Prozesse gut bekannt sind. In ihrem Vermögen, Kohlendioxyd mit Wasserstoff im Licht reduzieren zu können, zeigt die Alge Übereinstimmung mit den Purpurbakterien. *Chlorella* zeigt dagegen keine solche Anpassung an anaerobe Lebensbedingungen. Dass die *Scenedesmus*-Arten in ihrer Stickstoffversorgung an Bakterien und Pilze erinnern, ist oben hervorgehoben worden.

Gleichwie die Bakterien ziehen die Algen eine neutrale oder schwach alkalische Reaktion vor; dies im Gegensatz zu den Pilzen, die am besten in einem sauren Medium gedeihen. Die höheren Pflanzen zeigen in dieser Hinsicht grosse Variationen.

In ihrem Verhältnis zu Indolylessigsäure unterscheiden sich die Chlorophyceen ganz von den höheren Pflanzen. Während Indolylessigsäure bei den letzteren das Streckungswachstum der Zellen beeinflusst, verursacht sie bei den Algen eine Zunahme der Zellteilungsgeschwindigkeit. Auch wenn Zellstreckung und Zellteilung zwei Erscheinungen sind, die voneinander abhängig sein können, so deuten doch gewisse Tatsachen darauf hin, dass der Wirkungsmechanismus der Indolylessigsäure bei den Algen ein anderer ist als bei den höheren Pflanzen. So ist die Indolylessigsäure bei den Algen nur bei autotropher Ernährung wirksam, während ihre Wirksamkeit bei den höheren Pflanzen vor allem an heterotrophen Organen (Koleoptilen, Wurzeln) studiert worden ist. ELLIOTT (1938) konnte nachweisen, dass die Indolylessigsäure die Zellteilungsgeschwindigkeit bei *Euglena* beschleunigt. Da dieser Organismus keine Zellwand besitzt, ist eine Beeinflussung der Zellteilung über das Streckungswachstum hier ausgeschlossen. Es bestehen daher Gründe für die Annahme, dass die Indolylessigsäure bei chlorophyllführenden Mikroorganismen Zellteilungen durch einen direkten Eingriff in den Stoffwechsel des Plasmas hervorruft, während man in bezug auf die höheren Pflanzen der Ansicht ist, dass sie durch Auflösung der Bindungen zwischen den Pektinmolekülen in der jungen Zellenwand ein Streckungswachstum herbeiführt.

Die Wirkung der Indolylessigsäure kann nur in saurer Lösung

nachgewiesen werden. Wahrscheinlich hängt diese Erscheinung damit zusammen, dass die Säure in Form undissoziierter Moleküle leichter in die Zellen eindringt denn als Ionen. Sie besitzt spezifische Wirkungen und kann weder als Kohlenstoff-, noch als Stickstoffquelle dienen.

Dass Algen (*Macrocystis*) Indolylessigsäure produzieren können, hat VAN OVERBEEK (1940) gezeigt. Die Erscheinung, dass gewisse Chlorophyceen auf Indolylessigsäure reagieren, andere nicht, kann so gedeutet werden, dass gewisse Algen diese Säure selbst in für sie vollkommen genügender Menge produzieren. Indessen kann gegenwärtig nicht entschieden werden, ob die Indolylessigsäure normal in den Algen vorkommt oder ob sie als ein Stimulans mit ertragssteigernden Wirkungen zu betrachten ist, das jedoch ganz entbehrt werden kann.

In der Natur wird die Indolylessigsäure bekanntlich vor allem von heterotrophen Mikroorganismen produziert, wobei sie durch eine oxydative Desaminierung aus dem von Eiweißstoffen herstammenden Tryptophan entsteht. Es ist demnach nicht unwahrscheinlich, dass sie für die Chlorophyceen in natürlichen Gewässern eine gewisse Rolle als wachstumsstimulierender Faktor spielen kann. — Über den Effekt der Indolylessigsäure auf Pilze und Bakterien liegen widersprechende Angaben vor.

Ascorbinsäure stimuliert merkbar die Zellteilung bei Chlorophyceen. Die Wirkungen treten erst bei ziemlich hoher Konzentration zutage, was mit der Unbeständigkeit der Substanz zusammenhängt. In verdünnten Lösungen wird die Ascorbinsäure nämlich so gut wie unmittelbar oxydiert. Die Wirkungen sind spezifisch, und die Säure kann nicht als Kohlenstoffquelle verwendet werden. Die Ascorbinsäure ist an und für sich nicht giftig. Die Giftwirkungen, die in konzentrierteren Lösungen beobachtet werden können, sind auf sekundäre Veränderungen im Zusammenhang mit ihrer Oxydation zurückzuführen (pH-Senkung, Anhäufung von toxischen Oxydationsprodukten).

Unter dem Einfluss von Ascorbinsäure nimmt der Gehalt der Chlorophyceen an Chlorophyll und Carotinoiden zu. Da die Assimilationsintensität dem Gehalt an Chlorophyll direkt proportional ist, nehmen auch die Assimilation und damit die Trockensubstanzmenge und das Wachstum zu. Die Ascorbinsäure ist dagegen für die Chlorophyllsynthese nicht unbedingt erforderlich. Da die Ascorbinsäure laut LEMOIGNE und Mitarbeitern (1937) an der Nitratreduktion teilnimmt und eine erhöhte Stickstoffassimilation mit einer Zunahme des Chlorophyllgehalts verbunden ist, erscheint es möglich, dass sie auf diesem Weg die Chlorophyllbildung beeinflusst. Kurz dauernde Behandlung mit

Ascorbinsäure (Licht) ist ohne Wirkung auf die Assimilation. Dies zeigt, dass die Säure nicht in den Assimilationsprozess selbst eingreift, sondern diesen auf indirektem Weg beeinflusst. Bei heterotropher Ernährung bleibt der positive Effekt der Ascorbinsäure aus. Algen, die unter heterotrophen Bedingungen aufgezogen worden sind, sind ascorbinsäurefrei. Sie können Glukose nicht in Ascorbinsäure umwandeln. Algen, die unter autotrophen Bedingungen aufgezogen worden sind, sind dagegen ascorbinsäurehaltig, wenn auch die Ascorbinsäure in suboptimalen Mengen vorliegt, was sich daraus ergibt, dass sie auf eine Zuführung der Substanz von aussen mit einer Ertragssteigerung reagieren.

Die mit den Chlorophyceen als Versuchsobjekt erhaltenen Resultate dürften allgemeine Gültigkeit besitzen. Die Ascorbinsäure in den grünen Pflanzen kann demnach nicht, wie dies früher häufig geschehen ist, als ein passives Assimilationsprodukt betrachtet werden, dessen Menge von Chlorophyllgehalt, Assimilationsintensität und Glukosegehalt abhängig ist. Im Gegenteil beeinflusst die Ascorbinsäure die Assimilationsintensität und Trockensubstanzproduktion der Pflanzen durch eine Erhöhung des Gehaltes an Chlorophyll.

Es ist wahrscheinlich, dass die Ascorbinsäure in den Pflanzen auch andere Funktionen zu erfüllen hat. Da sie eine kräftige Redoxsubstanz ist und in den Pflanzen durch ein spezielles Enzym, die Ascorbinsäureoxydase, oder durch Polyphenolase via Polyphenolen oxydiert werden kann, hat man geglaubt, dass ihre Tätigkeit mit der Atmung verbunden ist. In der Tat nimmt auch die Atmungsintensität der Chlorophyceen nach Ascorbinsäurebehandlung zu. — Über den Effekt der Ascorbinsäure auf Pilze und Bakterien liegen in der Literatur widersprechende Angaben vor.

In Algen ist Ascorbinsäure in eigenen Versuchen sowie überdies von NORRIS, SIMEON und WILLIAMS (1937), ONDRATSCHEK (1940 c) sowie von RÖNNERSTRAND (1943) nachgewiesen worden. Dass der Vitamin-C-Bedarf der Algen auf einem Syntheseverlust beruhen kann, hat ONDRATSCHEK nachgewiesen. Die von mir untersuchten Arten haben das Vermögen, nur einen Teil ihres Bedarfs an Ascorbinsäure zu synthetisieren. Nach allem zu urteilen ist die Ascorbinsäure als ein organischer Wachstumsfaktor zu betrachten, der für den normalen Stoffwechsel der Algen bei autotropher Ernährung notwendig ist.

Aneurin wird von sowohl auto- wie heterotrophen Pflanzen synthetisiert. Sein Vorkommen in Algen ist von GUNDERSON und SKINNER (1934), NORRIS, SIMEON und WILLIAMS (1937) sowie von ONDRATSCHEK (1940 c) nachgewiesen worden. Laut ONDRATSCHEK beruht der Aneurin-

bedarf der Algen auf einem Verlust oder einer Herabsetzung des Vermögens, diesen Stoff zu synthetisieren. Aneurin ist demnach als ein organischer Wachstumsfaktor zu bezeichnen, der für den normalen Stoffwechsel notwendig ist. Die hier untersuchten Chlorophyceen reagierten nicht oder nur unbedeutend auf einen Zusatz von Aneurin. Gestützt auf diese Beobachtung kann angenommen werden, dass sie das Vermögen besitzen, selbst ihren Bedarf an Aneurin zu decken. — Dass Aneurin für eine normale Entwicklung und ein normales Wachstum vieler Pilze und Bakterien sowie auch für die Wurzeln höherer Pflanzen notwendig ist, ist wohlbekannt.

IX. Summary.

Title: Investigations into the nutritional physiology of the *Chlorophyceae* with special reference to indole-acetic acid, ascorbic acid and thiamin.

1. The first chapter gives a review of the literature on the influence of growth substances on the *Chlorophyceae*. Special attention is given to soil and algal extracts and to stimulants in natural waters. The literature on the influence of indole-acetic acid (heteroauxin), ascorbic acid (vitamin C) and thiamin (anerin, vitamin B₁) is reviewed in detail. Contradictory data are given for indole-acetic acid. Investigations on the influence of ascorbic acid and thiamin are few in number. The present work aims at giving a contribution to the nutritional physiology of the *Chlorophyceae* with special regard to the effects of indole-acetic acid, ascorbic acid and thiamin.

2. The algae were isolated in pure culture by current microbiological methods. Care was taken to conduct the experiments under conditions that ensured the exclusion of all foreign organisms. Rapid and uniform inoculation was obtained by using a specially designed inoculation tube. The cultures were suspended in a window facing the east and were protected against direct sunlight. In the dark season artificial illumination was used. A temperature of about 20° C was maintained. At the end of the experiment growth was determined by the aid of a haemocytometer and was expressed as the number of cells per c.mm. The following *Chlorophyceae* were investigated: *Chlorella* sp. A, *Chlorella vulgaris* B, *Chlorella vulgaris* M, *Ankistrodesmus falcatus*, *Scenedesmus obliquus*, *Scenedesmus dimorphus*, *Scenedesmus acuminatus*, *Scenedesmus acutiformis*, *Scenedesmus quadricauda* and *Stichococcus bacillaris*. The letters designate physiological races. All cultures (except *Ch. vulgaris* M?) are clones.

3. Both nitrates and ammonium salts can be utilized as a source of nitrogen. The latter in high concentration have a poisonous effect. Ammonium nitrate acts as an ammonium salt. With phosphate buffer

($1/150$ mol, pH 6.5—7.0) and potassium nitrate as N-source the pH changes in the solutions are insignificant.

4. Growth increases with rising pH. The best growth was obtained at pH 7.9; higher values were not tested. Even at so low a pH as 4.6 distinct growth was obtained in several cases.

5. Iron may be indiscriminately added in the form of ferric chloride, ferric citrate or ferrous chloride if the solution is acid. In alkaline solution ferric citrate and ferrous chloride are preferable.

6. Differences in the size of the inoculum are without significance if the cell counts are made when growth in the cultures has ceased. Two species, however, *Ankistrodesmus* and *Chlorella sp. A*, differed in this respect.

7. Glucose, galactose and maltose are good sources of carbon. Most probably the last-mentioned may be utilized without previous hydrolysis. Sucrose cannot be utilized at all or only with difficulty, probably owing to the absence of hydrolytic enzymes. Mannite and glycerol are unserviceable as carbon sources, and the same is the case with amino acids, peptone and urea. Sodium acetate, on the other hand, may be used.

8. Glycocoll, as a source of nitrogen, may be considered as equal to or even superior to nitrate. α -alanine is a very good N-source, especially for the *Scenedesmus* species, whereas asparagine has in many cases given a considerably inferior result to nitrate, glycocoll and alanine. Peptone is advantageous for the *Scenedesmus* species, but cannot be utilized by the *Chlorella* species. Several species do not seem to be able to utilize urea. It may be pointed out that the amino acids are utilized under liberation of ammonia, which renders the solution more or less alkaline. The *Scenedesmus* species have a great power of deamination.

9. Indole-3-acetic acid exercised a stimulatory effect on cell division in three of the species, viz. *Chlorella sp. A*, *Chlorella vulgaris* B and *Scenedesmus obliquus*. The optimum concentration ranges from 0.1—50 ppm., showing different levels for different species. 100 ppm. are without stimulatory effect or even poisonous. The number of cells at optimum was 2—3 times as great as in the control.

10. Indole-acetic acid affects cell division in acid solution but not in neutral, the reason doubtless being that it enters the cells in the form of undissociated molecules. The best result was obtained at pH 5.0, which was the lowest pH value tested.

11. In order to investigate the stability of indole-acetic acid a colorimetric method for quantitative determination, founded on a new

colour reaction on that acid, was elaborated. Indole-acetic acid was oxidized by the oxygen of the air with formation of yellow to yellowish-brown products. The oxidation is catalysed by light and proceeds at a more rapid rate in acid than in neutral solution. In darkness and neutral solution the acid is stable, at any rate for a short time.

12. The oxidation products of indole-acetic acid exercise an inhibiting effect on growth. Reduced illumination and short experiment time counteract the disturbing influence. A determination of growth at an unsuitable moment may easily convey the impression that the acid is without effect or even has an inhibitive action.

13. Indole-acetic acid is superior to the homologous compounds in efficiency. Its effect is specific, and it cannot serve either as a source of carbon or of nitrogen.

14. In the case of heterotrophic nutrition the stimulatory influence of indole-acetic acid fails to appear.

15. Indole-acetic acid does not affect the size of cells except in solutions of high concentration, where cell division is strongly inhibited.

16. A discussion of the experimental results leads to the view that indole-acetic acid has other effects on *Chlorophyceae* than it has on higher plants. Presumably it causes cell divisions by directly intervening in the metabolism of the plasma.

17. L-ascorbic acid exercised a positive influence on cell division in all the *Chlorophyceae* investigated. Its effect was observable only at a rather high concentration, 1 g per l. Lower concentrations did not give an increase of growth. The number of cells in the ascorbic acid cultures was about double that in the controls, sometimes considerably higher.

18. The effect of ascorbic acid is specific, and the acid cannot serve as a source of carbon.

19. An investigation of the stability of ascorbic acid resulted in disclosing why it is active only in high concentration, the ascorbic acid being subject to rapid oxidation in dilute solution. Only in the concentration 1 g per l. does it last so long that its physiological activity can be expected to make itself felt.

20. During the oxidation of ascorbic acid, a pH decrease takes place in the originally neutral solution owing to the formation of strong organic acids. In a buffered solution ($\frac{1}{150}$ mol phosphate) the pH decrease is, at least initially, insignificant.

21. Growth in an ascorbic acid culture ceases after 10—12 days owing to the above-mentioned pH decrease and to the accumulation of

oxidation products, the latter exercising an inhibiting influence on growth.

22. Ascorbic acid is not in itself poisonous. The poisonous effect that can be observed in a rather concentrated solution is due to secondary changes connected with the oxidation (pH decrease, toxic oxidation products).

23. Under the influence of ascorbic acid the chlorophyll and carotinoid contents of the algae increase. The intensity of carbon assimilation being directly proportional to the chlorophyll content, carbon assimilation and simultaneously dry matter and cell division increase. On the other hand, ascorbic acid is not absolutely necessary for the formation of chlorophyll.

24. In heterotrophic nutrition the positive influence of ascorbic acid on cell division fails to appear. Algae raised under heterotrophic conditions (glucose) are free from ascorbic acid and are thus incapable of converting glucose into ascorbic acid. Algae raised under autotrophic conditions contain ascorbic acid in suboptimal quantities. The formation and activity of ascorbic acid are consequently bound up with light.

25. The intensity of respiration of the algae increases somewhat after treatment with ascorbic acid.

26. The results attained with *Chlorophyceae* as to the effect of ascorbic acid probably possess general applicability. The ascorbic acid in the green plants is not to be regarded as a passive photosynthetic product the quantity of which is dependent on chlorophyll content, intensity of carbon assimilation and glucose content. On the contrary, ascorbic acid affects the intensity of carbon assimilation and production of the dry matter of the plants by increasing the chlorophyll content.

27. The algae did not react to a thiamin admixture at all or did so only to an insignificant degree. Presumably they synthesize themselves their thiamin in quantities quite sufficient for their needs.

X. Literaturverzeichnis.

- ALBAUM, H. G., KAISER, S. and NESTLER, H. A., 1937, The relation of hydrogen ion concentration to the penetration of 3-indol acetic acid into *Nitella* cells. — Am. J. Bot. 24, 513.
- ALBERTS-DIETERT, F., 1941, Die Wirkung von Eisen und Mangan auf die Stickstoff-assimilation von *Chlorella*. — Planta 32, 88.
- ANDERSSON, M., 1942, Einige ernährungsphysiologische Versuche mit *Ulva* und *Enteromorpha*. — Fysiogr. Sällsk. Förh. Lund 12, Nr 4.
- ARMENTANO, L., 1940, Die Wirkung verschiedener Ionen auf die katalytische Oxydation der Ascorbinsäure. — Bioch. Z. 307, 270.
- ARTARI, A., 1899, Ueber die Entwicklung der grünen Algen unter Ausschluss der Bedingungen der Kohlensäure-Assimilation. — Bull. Soc. Imp. Nat. Moscou 13, 39.
- 1902, Zur Frage der physiologischen Rassen einiger grünen Algen. — Ber. D. Bot. Ges. 20, 172.
- 1904, Der Einfluss der Konzentration der Nährlösungen auf die Entwicklung einiger grüner Algen. I. — Jahrb. wiss. Bot. 40, 593.
- 1906, Der Einfluss der Konzentration der Nährlösungen auf die Entwicklung einiger grüner Algen. II. — Jahrb. wiss. Bot. 43, 177.
- 1913, Zur Physiologie der Chlamydomonaden. — Jahrb. wiss. Bot. 52, 410.
- BEIJERINCK, M. W., 1890, Culturversuche mit Zoochlorellen, Lichenengonidien und anderen niederen Algen. — Bot. Ztg. 48, 725.
- 1893, Bericht über meine Kulturen niederer Algen auf Nährgelatin. — Zbl. f. Bakt. 13, 368.
- BENECKE, W., 1898, Ueber Culturbedingungen einiger Algen. — Bot. Ztg. 56, 83.
- BERGER, J. and AVERY, G. S., 1943, Sc. 98, 454. (Zitiert nach OVERBEEK, J. v., Growth-regulating substances in plants. — Ann. Rev. Bioch. 13, 631, 1944.)
- BONNER, J., 1934, The relation of hydrogen ions to the growth rate of *Avena coleoptile*. — Protoplasma 21, 406.
- BORSOOK, H., DAVENPORT, H. W., JEFFREYS, C. E. P. and WARNER, R. C., 1937, The oxidation of ascorbic acid and its reduction *in vitro* and *in vivo*. — J. Biol. Chem. 117, 237.
- BOYSEN JENSEN, P., 1932, Über die Bildung und biologische Bedeutung des Wachstumsregulators bei *Aspergillus niger*. — Bioch. Z. 250, 270.
- 1936, Growth hormones in plants. — New York, London 1936.
- BRANNON, M. A., 1937, Algae and growth-substances. — Sc. 86, 353.
- BRANNON, M. A. and BARTSCH, A. F., 1939, Influence of growth substances on growth and cell division in green algae. — Am. J. Bot. 26, 271.

- BRIEGER, R., 1931, Behandlung und Gesamtanalyse des Pflanzenmaterials. — KLEIN, G., Handb. d. Pflanzenanalyse 1, 516. Wien 1931.
- BUKATSCH, F., 1939, Über die Rolle der Ascorbinsäure in den Chloroplasten. — *Planta* 30, 118.
- 1940, Über die Rolle der Ascorbinsäure in den Chloroplasten, II. — *Planta* 31, 209.
- BURSTRÖM, H., 1939 a, Über die Schwermetallkatalyse der Nitratassimilation. — *Planta* 29, 292.
- 1939 b, Die Rolle des Mangans bei der Nitratassimilation. — *Planta* 30, 129.
- 1939 c, Tungmetallernas inverkan på växtens nitratassimilation. — *Lantbruksakad. Tidskr.* 78, 35.
- 1941, Studies on the carbohydrate nutrition of roots. — *Ann. Agr. Coll. Sweden* 9, 264.
- 1942, The influence of heteroauxin on cell growth and root development. — *Ann. Agr. Coll. Sweden* 10, 209.
- BÜNNING, E., 1934, Wachstum und Stickstoffassimilation bei *Aspergillus niger* unter dem Einfluss von Wachstumsregulatoren und von Vitamin B. — *Ber. D. Bot. Ges.* 52, 423.
- CARO, L. DE und GIANI, M., 1934, Oxydationsschutz der Ascorbinsäure durch tierisches Gewebe. — *Z. physiol. Chem.* 228, 13.
- CARTENI, A. e MORELLI, A., 1937, Sulla ossidazione e distruzione dell'acido ascorbico. — *Archivio Sc. Biol.* 23, 335.
- CHICK, H., 1903, A study of a unicellular green alga, occurring in polluted water, with especial reference to its nitrogenous metabolism. — *Proc. Roy. Soc.* 71, 458.
- CHODAT, R., 1926, *Scenedesmus*, étude de génétique, de systématique expérimentale et d'hydrobiologie. — *Rev. d'hydrologie* 3, 71.
- CHODAT, R. et GRINTZESCO, I., 1900, Sur les méthodes de culture pure des algues vertes. — *Congr. Intern. Bot. Paris*, 1900, 157.
- CHOLODNY, N. G. and GORBOVSKY, A. G., 1939, Effect of indole-3-acetic acid on photosynthesis. — *Sc.* 90, 41.
- COMMONER, B. and THIMANN, K. V., 1941, *J. Gen. Physiol.* 24, 279. (Zitiert nach OVERBEEK, J. v., Growth-regulating substances in plants. — *Ann. Rev. Bioch.* 13, 642, 1944.)
- CZURDA, V., 1933, Experimentelle Analyse der kopulationsauslösenden Bedingungen bei Mikroorganismen. — *Beih. Bot. Cbl., Erste Abt.*, 51, 711.
- DICKENS, F., 1941, Die manometrische Methode. — BAMANN, E. und MYRBÄCK, K., *Die Methoden der Fermentforschung* 1, 985, Leipzig 1941.
- EKMAN, B., 1944, Oxydation zyklischer Verbindungen durch Vitamin C. — *Acta Physiol. Scand.* 8, Suppl. 22.
- ELLIOTT, A. M., 1938, The influence of certain plant hormones on growth of *Protozoa*. — *Physiol. Zoöl.* 11, 31.
- EMERSON, R., 1929, The relation between maximum rate of photosynthesis and concentration of chlorophyll. — *J. Gen. Physiol.* 12, 609.
- ESSEN-MÖLLER, E., 1941, Kompendium i statistik för medicinare. — Malmö 1941.
- FRIES, N., 1943, Über die Wirkung von Heteroauxin auf das Protonema von *Funaria hygrometrica*. — *Naturwiss.* 31, 439.

- GAFFRON, H., 1940, Carbon dioxide reduction with molecular hydrogen in green algae. — Am. J. Bot. 27, 273.
- GIROUD, A., RATSIMAMANGA, R. et LEBLOND, C.-P., 1934, Parallélisme entre la vitamine C et la chlorophylle. — C. R. Soc. Biol. 117, 612.
- 1935, Relations entre la vitamine C et les carotinoïdes. Maturation des fruits. — C. R. Soc. Biol. 118, 874.
- GOLDSTEIN, B. and KACHEROVA, S., 1940, On the interrelationships between glutathion and ascorbic acid in animal tissues. — Bioch. Ž. 16, 25 (Ukrainisch, zitiert nach Ber. Ges. Physiol. 126, 54, 1941).
- GRINTZESCO, M. J., 1902, Recherches expérimentales sur la morphologie et la physiologie de *Scenedesmus acutus* Meyen. — Bull. Herb. Boissier 2, 217.
- 1903, Contribution à l'étude des protococcacées. *Chlorella vulgaris* Beyer. — Rev. Gén. Bot. 15, 5.
- GUNDERSON, M. F. and SKINNER C. E., 1934, Production of vitamins by a pure culture of *Chlorococcum* grown in darkness on a synthetic medium. — Plant Physiol. 9, 807.
- HANSSON, N., 1926, Svenskt fiskfodermjöl, dess sammansättning och bruksvärde. — Centralanst. f. försöksv. p. jordbruksomr. Medd. 302.
- HARVEY, H. W., 1939, Substances controlling the growth of a diatom. — J. Mar. Biol. Ass. 23, 499.
- HAUSEN, S. v., 1936, The role of vitamin C in the growth of higher plants. — Ann. Acad. Sc. Fenn. A 46, Nr 3.
- HERTER, C. A., 1908, On indolacetic acid as the chromogen of »urorosein» of the urine. — J. Biol. Chem. 4, 253.
- HOLTZ, P. und TRIEM, G., 1937, Über Peroxydbildung bei der Autoxydation von Ascorbinsäure und Sulfhydrylkörpern. — Z. physiol. Chem. 248, 1.
- HOPKINS, E. F., 1930, Iron-ion concentration in relation to growth and other biological processes. — Bot. Gaz. 89, 209.
- 1934, Manganese an essential element for green plants. — Cornell Univ. Agr. Exp. Station. Mem. 151.
- HOPKINS, E. F. and WANN, F. B., 1926, Relation of hydrogen-ion concentration to growth of *Chlorella* and to the availability of iron. — Bot. Gaz. 81, 353.
- 1927, Iron requirement for *Chlorella*. — Bot. Gaz. 84, 407.
- IGGENA, M. L., 1938, Beobachtungen über die Wirkung des Lichtes auf das Wachstum von Blaualgen und Grünalgen. — Arch. Mikrobiol. 9, 129.
- JANKE, A., 1939, Die Wuchsstoff-Frage in der Mikrobiologie. — Zbl. f. Bakt. 2. Abt. 100, 409.
- KLEBS, G., 1896, Die Bedingungen der Fortpflanzung bei einigen Algen und Pilzen. — Jena 1896.
- KOLKWITZ, R., 1935, Pflanzenphysiologie. — Jena 1935.
- KOLTHOFF, I. M., 1926, Der Gebrauch von Farbindikatoren. — Berlin 1926.
- KOSSOWITSCH, P., 1894, Untersuchungen über die Frage, ob die Algen freien Stickstoff fixieren. — Bot. Ztg. 52, 97.
- KOSTKA, G., 1924, Praktische Anleitung zur Kultur der Mikroorganismen. — Handb. f. d. prakt. naturwiss. Arbeit, 17—18, Stuttgart 1924.
- KRÜGER, W., 1894, Beiträge zur Kenntnis der Organismen des Saftflusses der Laubbäume. — Beitr. Physiol. u. Morph. niederer Organismen 4, 69.

- KUFFERATH, H., 1913, Contribution à la Physiologie d'une Protococcacée nouvelle, *Chlorella luteo-viridis* Chodat. — Rec. Inst. Bot. Léo Errera 9, 113.
- KYLIN, A., 1943, The influence of trace elements on the growth of *Ulva lactuca*. — Fysiogr. Sällsk. Förh. Lund 13, Nr 19.
- KYLIN, H., 1941, Biologische Analyse des Meerwassers. — Fysiogr. Sällsk. Förh. Lund 11, Nr 21.
- 1942, Über den Einfluss von Glucose, Ascorbinsäure und Heteroauxin auf die Keimlinge von *Ulva* und *Enteromorpha* — Fysiogr. Sällsk. Förh. Lund 12, Nr 12.
- 1943, Über die Ernährung von *Ulva lactuca*. — Fysiogr. Sällsk. Förh. Lund 13, Nr 21.
- KÜSTER, E., 1921, Kultur der Mikroorganismen. — Leipzig, Berlin 1921.
- LEHNARTZ, E., 1942, Einführung in die chemische Physiologie. — Berlin 1942.
- LEMOIGNE, M., MONGUILLON, P. et DESVEAUX, R., 1937, Réduction de l'acide nitreux en hydroxylamine par les végétaux supérieurs. Rôle de l'acide ascorbique. — C. R. Acad. Sc. Paris 204, 1841.
- LEONIAN, L. H. and LILLY, V. G., 1937, Is heteroauxin a growthpromoting substance? — Am. J. Bot. 24, 135.
- LEVAN, A., 1939, Cytological phenomena connected with the root swelling caused by growth substances. — Hereditas 25, 87.
- LEVRING, T., 1945 a, Some culture experiments with *Ulva* and artificial sea water. — Fysiogr. Sällsk. Förh. Lund 16, Nr 7.
- 1945 b, Some culture experiments with marine plankton diatoms. — Medd. Oceanogr. Inst. Göteborg 9, 1.
- LUCKSCH, I., 1932, Ernährungsphysiologische Untersuchungen an Chlamydomonaden. — Beih. Bot. Cbl. 50, 64.
- LUDWIG, C. A., 1938, The availability of different forms of nitrogen to a green alga. — Am. J. Bot. 25, 448.
- LWOFF, A. et LEDERER, E., 1935, Remarques sur l'« extrait de terre » envisagé comme facteur de croissance pour les flagellés. — C. R. Soc. Biol. 119, 971.
- MAERTENS, H., 1914, Das Wachstum von Blaualgen in mineralischen Nährlösungen. — Beitr. Biol. d. Pflanzen. 12, 439.
- MARMER, D. R., 1937, Growth of wheat seedlings in solutions containing chemical growth substances. — Am. J. Bot. 24, 139.
- MICHAELIS, L. und KRÜGER, R., 1921, Weitere Ausarbeitung der Indikatorenmethode ohne Puffer. — Bioch. Z. 119, 307.
- MITCHELL, J. W. and BRUNSTETTER, B. C., 1939, Colorimetric methods for the quantitative estimation of indol(3)acetic acid. — Bot. Gaz. 100, 802.
- MOLDTMANN, H. G., 1939, Untersuchungen über den Ascorbinsäuregehalt der Pflanzen in seiner Abhängigkeit von inneren und äusseren Faktoren. — Planta 30, 297.
- MOLISCH, H., 1895, Die Ernährung der Algen, I. — Sitz. ber. K. Akad. Wiss. Wien, Math. n. Cl. 104, 783.
- 1896, Die Ernährung der Algen, II. — Sitz. ber. K. Akad. Wiss. Wien, Math. n. Cl. 105, 633.
- NAKANO, H., 1917, Untersuchungen über die Entwicklungs- und Ernährungsphysiologie einiger Chlorophyceen. — J. Coll. Sc. Imp. Univ. Tokyo 40, Art. 2, 1.
- NAUMANN, E., 1936, Die Massensucht von nannoplanktischen Grünalgen als Futter für Wassertiere. — ABDERHALDEN, E., Handb. Biol. Arbeitsmethoden Abt. 9, T. 2/II, 1775. Berlin, Wien 1936.

- NEUBAUER, M., 1939, Das Vitamin C in der Pflanze. — *Protoplasma* 33, 345.
- NIELSEN, N. og HARTELIUS, V., 1932, Om Adskillelsen af Vækststoffer. — *Medd. Carlsberglab.* 19, Nr 8.
- NOACK, K. und PIRSON, A., 1939, Die Wirkung von Eisen und Mangan auf die Stickstoffassimilation von *Chlorella*. — *Ber. D. Bot. Ges.* 57, 442.
- NORRIS, E. R., SIMEON, M. K. and WILLIAMS, H. B., 1937, The vitamin B and vitamin C content of marine algae. — *J. nutrition* 13, 425.
- NÄGELI, C. v., 1893, Ueber oligodynamische Erscheinungen in lebenden Zellen. — *Denkschr. Schweiz. Naturf. Ges.* 33, 1.
- ONDRATSCHEK, K., 1935, Über die Brauchbarkeit einiger Glassorten für Algenkultur. — *Arch. Mikrobiol.* 6, 532.
- 1940 a, Experimentelle Untersuchungen über den Einfluss von Wirkstoffen auf die Vermehrung einiger mixotropher Algen. — *Arch. Mikrobiol.* 11, 89.
- 1940 b, Vitamine als vermehrungsbegrenzende Faktoren bei *Haematococcus pluvialis*. — *Arch. Mikrobiol.* 11, 219.
- 1940 c, Experimentelle Untersuchungen über den Zusammenhang zwischen Vitaminbedürfnis und Verlust des Syntesevermögens einiger mixotropher Algen. — *Arch. Mikrobiol.* 11, 228.
- 1940 d, Über das Wirkstoffbedürfnis heterotropher Algen, I. — *Arch. Mikrobiol.* 11, 239.
- 1941 a, Über das Wirkstoffbedürfnis heterotropher Algen, III. — *Arch. Mikrobiol.* 12, 91.
- 1941 b, Über das Wirkstoffbedürfnis heterotropher Algen, IV. — *Arch. Mikrobiol.* 12, 229.
- ONO, N., 1900, Ueber die Wachstumsbeschleunigung einiger Algen und Pilze durch chemische Reize. — *J. Coll. Sc. Imp. Univ. Tokyo* 13, 141.
- OTTE, K., 1937, Die Wuchsstoffe im Leben der höheren Pflanze. — Braunschweig 1937.
- OVERBEEK, J. v., 1940, Auxin in marine algae. — *Plant Physiol.* 15, 291.
- PALLADIN, W., 1904, Ueber normale und intramolekulare Atmung der einzelligen Alge *Chlorothecium saccharophilum*. — *Zbl. f. Bakt.* 11, 146.
- PASCHER, A., 1914—15, Die Süßwasserflora Deutschlands, Österreichs und der Schweiz. — H. 5, Jena 1915, H. 6, Jena 1914.
- PETRASCHEVSKY, L., 1904, Über Atmungskoeffizienten der einzelligen Alge *Chlorothecium saccharophilum*. — *Ber. D. Bot. Ges.* 22, 323.
- PRATT, R., 1938 a, Influence of auxins on the growth of *Chlorella vulgaris*. — *Am. J. Bot.* 25, 498.
- 1938 b, Influence of indol-3-acetic acid on the respiration and growth of intact wheat seedlings. — *Am. J. Bot.* 25, 389.
- PRINGSHEIM, E. G., 1921 a, Zur Physiologie saprophytischer Flagellaten (*Polytoma, Astasia, Chilomonas*). — *Beitr. Allg. Bot.* 2, 88.
- 1921 b, Algenkultur. — ABDERHALDEN, E., *Handb. Biol. Arbeitsmethoden* Abt. 11, T. 2, 377. Berlin, Wien 1924.
- 1926, Kulturversuche mit chlorophyllführenden Mikroorganismen, V. — *Beitr. Biol. d. Pflanzen* 14, 283.
- 1930, Die Kultur von *Micrasterias* und *Volvox*. — *Arch. f. Protist.* 72, 1.
- 1934, Untersuchungen zu Uspenskis Eisenhypothese der Algenverbreitung. — *Planta* 22, 269.

- 1935 a, Wuchsstoffe im Erdboden? — Naturwiss. 23, 197.
— 1935 b, Über Azetatflagellaten. — Naturwiss. 23, 110.
— 1936, Das Rätsel der Erdabkochung. — Beih. Bot. Cbl., Abt. A 55, 100.
— 1937, Beiträge zur Physiologie saprophytischer Algen und Flagellaten, 1—2. — *Planta* 26, 631 bzw. 26, 665.
- PRINGSHEIM, H. und KRÜGER, D., 1932, Charakterisierung, Bestimmung und Darstellung der einzelnen Zucker. — KLEIN, G., Handb. d. Pflanzenanalyse II: 1, 821. Wien 1932.
- RICHTER, O., 1911, Die Ernährung der Algen. — Intern. Rev. Ges. Hydrobiol. u. Hydrogr. 2.
- ROACH, B. M. B., 1926, On the relation of certain soil algae to some soluble carbon compounds. — *Ann. Bot.* 40, 149.
— 1927, On the carbon nutrition of some algae isolated from soil. — *Ann. Bot.* 41, 509.
- RONA, P., 1926, Praktikum der physiologischen Chemie, 1. — Berlin 1926.
- RÖNNERSTRAND, S., 1943, Untersuchungen über Oxydase, Peroxydase und Ascorbinsäure in einigen Meeresalgen. — Akad. Abh., Lund 1943.
- SALKOWSKI, E., 1885 a, Zur Kenntnis der Eiweissfäulnis, II: Die Skatolcarbonsäure. — *Z. physiol. Chem.* 9, 8.
— 1885 b, Ueber das Verhalten der Skatolcarbonsäure im Organismus. — *Z. physiol. Chem.* 9, 23.
- SCHLENKER, G., 1937, Die Wuchsstoffe der Pflanzen. — München, Berlin 1937.
- SCHOPFER, W. H., 1939, Vitamine und Wachstumsfaktoren bei den Mikroorganismen, mit besonderer Berücksichtigung des Vitamins B₁. — *Erg. Biol.* 16, 1.
- SCHOPFER, W. H. und BLUMER, S., 1938, Untersuchungen über die Biologie von *Ustilago violacea* (Pers.) Fuck., II. — *Arch. Mikrobiol.* 9, 305.
- SCHREIBER, E., 1927, Die Reinkultur von marinem Phytoplankton und deren Bedeutung für die Erforschung der Produktionsfähigkeit des Meerwassers. — *Wiss. Meeresuntersuch. N. F. Abt. Helgoland* 16, Nr. 10.
- SKOOG, F., BROYER, T. C. and GROSSENBACHER, K. A., 1938, Effects of auxin on rates, periodicity, and osmotic relations in exudation. — *Am. J. Bot.* 25, 749.
- SMITH, G. M., 1916, A monograph of the algal genus *Scenedesmus*, based upon pure culture studies. — *Trans. Wisconsin Acad. Sc.* 18, 422.
— 1920, Phytoplankton of the inland lakes of Wisconsin, I. — *Wisconsin geol. a. nat. hist. survey. Bull.* 57.
— 1933, The freshwater algae of the United States. — New York, London 1933.
- STEINBERG, R. A., 1937, Role of molybdenum in the utilization of ammonium and nitrate nitrogen by *Aspergillus*. — *J. Agr. Res.* 55, 891.
- STEINER, M., 1941, Die Kolensäureassimilation der grünen Pflanze. — BAMANN, E. und MYRBÄCK, K., Die Methoden der Fermentforschung 3, 2650, Leipzig 1941.
- SUNESON, S., 1942, Über wachstumsfördernde Wirkung von Algenextrakten auf *Ulva* und *Enteromorpha*. — *Fysiogr. Sällsk. Förh. Lund* 12, Nr 16.
— 1943, Weitere Untersuchungen über wachstumsfördernde Wirkung von Algenextrakten auf *Ulva lactuca*. — *Fysiogr. Sällsk. Förh. Lund* 13, Nr 20.
- SWENANDER LANKE, L., 1939, Eine kritische Prüfung der chemischen Methoden zur Bestimmung der Ascorbinsäure, sowie eine Methode zur Titration der Ascorbinsäure in Beeren und Obst mit starker Eigenfarbe. — *Fysiogr. Sällsk. Förh. Lund* 8, Nr 22.

- THIMANN, K. V., 1940, Collecting Net 15, 66. (Zitiert nach OVERBEEK, J. v., Growth regulating substances in plants. — Ann. Rev. Bioch. 13, 631, 1944.)
- TREBOUX, O., 1905, Organische Säuren als Kohlenstoffquelle bei Algen. — Ber. D. Bot. Ges. 23, 432.
- URHAN, O., 1932, Beiträge zur Kenntnis der Stickstoffassimilation von *Chlorella* und *Scenedesmus*. — Jahrb. wiss. Bot. 75, 1.
- USPENSKI, E. E., 1927, Eisen als Faktor für die Verbreitung niederer Wasserpflanzen. — Pflanzenforschung 9.
- USPENSKI, E. E. und USPENSKAJA, W. J., 1925, Reinkultur und ungeschlechtliche Fortpflanzung des *Volvox minor* und *Volvox globator* in einer synthetischen Nährlösung. — Z. f. Bot. 17, 273.
- WACHHOLDER, K., 1942, Über das Ascorbinsäure-Oxydationsvermögen pflanzlicher Extrakte. — Bioch. Z. 312, 394.
- VALÉRA, M. DE, 1940, Note on the difference in growth of *Enteromorpha* species in various culture media. — Fysiogr. Sällsk. Förh. Lund 10, Nr 5.
- WANN, F. B. and HOPKINS, E. F., 1927, Further studies on growth of *Chlorella* as affected by hydrogen-ion concentration. — Bot. Gaz. 83, 194.
- WEBER, F., 1941, Vitamin C-Gehalt von Albinos und panaschierten Pflanzen. — Protoplasma 35, 136.
- WEIER, E., 1938, Factors affecting the reduction of silver nitrate by chloroplasts. — Am. J. Bot. 25, 501.
- WENT, F. W., 1945, Auxin, the plant-growth hormone, II. — Bot. Rev. 11, 487.
- WENT, F. W. and THIMANN, K. V., 1937, Phytohormones. — New York 1937.
- WILDIERS, E., 1901, Nouvelle substance indispensable au developpement de la levûre. — La Cellule 18, 313.
- WILLSTÄTTER, R. und STOLL, A., 1913, Untersuchungen über Chlorophyll. — Berlin 1913.
- 1918, Untersuchungen über die Assimilation der Kohlensäure. — Berlin 1918.
- YIN, H. C., 1937, Effect of auxin on *Chlorella vulgaris*. — Proc. Nat. Acad. Sc. 23, 174.
-

Inhaltsverzeichnis.

	Seite
I. Historik	129
II. Material und Methodik	137
1. Glas und Chemikalien	137
2. Nährlösungen	138
3. Die pH-Bestimmung	139
4. Die Sterilisierung	139
5. Einsammlung des Materials. Reinzüchtung	140
6. Versuchsorganismen	143
7. Das Impfen	144
8. Licht, Temperatur u.a.	146
9. Quantitative Bestimmung des Wachstums	147
III. Anorganische Nährstoffe. Reaktion der Lösung	149
1. Anorganische Stickstoffquelle	149
2. Die Konzentration der Nährlösung	157
3. Die Reaktion der Nährlösung	158
4. Der Bedarf der Algen an Eisen	164
5. Die Grösse der Impfmenge	167
6. Zusammenfassung	169
IV. Organische Kohlenstoff- und Stickstoffquellen	170
1. Kohlehydrate	170
2. Mehrwertige Alkohole	177
3. Organische stickstofffreie Säuren	178
4. Organische stickstoffhaltige Verbindungen	180
V. Indolylessigsäure	185
1. Orientierende Versuche	185
2. Das Konzentrationsgebiet	187
3. Die Bedeutung des pH. Die Versuchszeit	190
4. Die Stabilität der Indolylessigsäure	194
5. Die Zerfallsprodukte der Indolylessigsäure	200
6. Weitere Versuche mit Indolylessigsäure und mit dieser vergleichbaren Verbindungen	202
7. Besprechung der Versuchsergebnisse	205
VI. Ascorbinsäure	210
1. Orientierende Versuche	210
2. Das Konzentrationsgebiet. Ascorbinsäure als Kohlenstoffquelle	211

	Seite
3. Die Stabilität der Ascorbinsäure	213
4. Der Wachstumsverlauf bei Anwesenheit von Ascorbinsäure	220
5. Die Zerfallsprodukte der Ascorbinsäure	222
6. Die Giftwirkung der Ascorbinsäure	225
7. Die Stabilisierung der Ascorbinsäure	226
8. Chlorophyllgehalt und Kohlensäureassimilation der Ascorbinsäure- kulturen	228
9. Ascorbinsäure bei mixo- und heterotropher Ernährung	242
10. Besprechung der Versuchsergebnisse	247
VII. Aneurin	256
1. Versuchsergebnisse	256
2. Besprechung der Versuchsergebnisse	259
VIII. Zusammenfassende Übersicht	261
IX. Summary	268
X. Literaturverzeichnis	272

Die vorliegende Arbeit ist im Botanischen Laboratorium der Universität Lund während der Jahre 1938—1945 ausgeführt worden. Es ist mir eine angenehme Pflicht, hier meinem früheren Chef und Lehrer in physiologischer Botanik, Herrn Professor Dr. H. KYLIN, meinen innigen Dank auszusprechen für die Anregung zu dieser Arbeit sowie für das Interesse, das er mir während meiner Studien und meiner Anstellung im Botanischen Laboratorium stets entgegengebracht hat.

Meinem jetzigen Chef, Herrn Professor Dr. H. BURSTRÖM, der mein Manuskript durchgelesen hat, sage ich wärmsten Dank für das Interesse und Wohlwollen, das er meiner Arbeit immer bewiesen hat, sowie auch für die vielen Ratschläge und fruchtbaren Erörterungen, durch die meine Aufgabe wesentlich erleichtert worden ist.

Meinem Lehrer in systematischer Botanik, Herrn Professor Dr. N. HERIBERT NILSSON, danke ich herzlich für seinen Unterricht und die mir immer geschenkte Aufmerksamkeit.

Meinen Freunden und Fachgenossen danke ich für gute Arbeitsgemeinschaft und fruchtbaren Gedankenaustausch. Kungl. Fysiografiska Sällskapet i Lund schulde ich Dank für die mir aus Ihrem Jubiläumsfond bewilligten Mittel.

Lund, Botanisches Laboratorium, März 1946.

SVEN ALGÉUS.

Pseudanabaena biceps, a New Saproelic Species from Bottom Mud.

By TYGE W. BÖCHER.

Botanical Institute, University of Copenhagen.

In the small and shallow brackish water lake, Flyndersø, in the vicinity of Rørvig (NW-Sealand) the bottom is covered by a layer of mud which smells rather strongly of sulphuretted hydrogen. The *Cyanophyta*-flora in the upper part of this bottom mud has been studied in some detail. It contains some species of *Microcystis* and *Chroococcus*, a large number of species belonging to the genus *Oscillatoria*, and one species which may be referred to *Pseudanabaena*. This genus was described by LAUTERBORN (1915, p. 437) in his work on sapropelic organisms from bottom mud («Faulschlam»).

According to LAUTERBORN *Pseudanabaena* is characterized by the clearly separated cells, the distinct chromoplasma and the large mobility of the thrichomes. Two species, viz. *P. constricta* and *P. catenata*, have been described. The cells of the former are constricted in their central part. Both are only found in bottom mud as is the case with a third species, *P. tenuis*, found later by KOPPE (1924).

In his two works (1925, 1932) on the *Cyanophyta* GEITLER, mainly on the basis of a single observation made by KOPPE (l.c.), has referred *P. constricta* to the genus *Anabaena*, and he evidently doubts the justification of setting up the genus *Pseudanabaena*, calling it a «Verlegenheitsgattung». KOPPE mentions and pictures only two rounded cells, which were found in one case in *P. constricta*. From his description it is not clear whether these two rounded cells had the wall-structure and colour which characterize heterocysts. Thus, their nature seems rather obscure, and further observations are needed before a definitive referring of *P. constricta* to *Anabaena*.

In a footnote GEITLER (1932, p. 874) mentions the investigations of CANNABAEUS (1929). He writes that »CANNABAEUS konnte auch bei anderen *Anabaena*-Arten durch anaerobe Kultur »*constricta*«-Formen, d.h.

heterocysten- and dauerzellenlose Trichome erzeugen». He supposes that *P. constricta*, which occurs in bottom mud with a low oxygen pressure, generally fails to form heterocysts. A closer study of the paper of CANNABAEUS however, shows that only *Anabaena variabilis* produces such hormogonium-like short trichomes without heterocysts, and these short parts never develop further. Curiously enough GEITLER does not mention some experiments made by CANNABAEUS (l.c. p. 21) which show that a lack of oxygen enlarges the heterocysts in *Anabaena laxa*, *variabilis* and *oscillatorioides*.

In this connexion the structure and behaviour of a new species *Pseudanabaena biceps* may be of special interest. This species is found in bottom mud from the above-mentioned lake together with sulphur bacteria and yellowish green *Oscillatoriae* in abundance. In this species the young cells are rounded and may remind of those described by KOPPE in *P. constricta*. Furthermore constrictions occur in dividing cells. The new alga exhibits spontaneous, rather vivaceous creeping or gliding movements. It has a very characteristic appearance. The terminal cells are more or less pointed and nearly always contain a ring of gasvacuoles (pseudovacuaes) or one large ringshaped gasvacuole in their distal parts. Sometimes one or two supplementary small gasvacuoles occur in the tips of the terminal cells (Figs. 7, 8, 10). In longitudinal sections the large gasvacuoles appear as two separate reddish bodies or as two light, refractive bodies, which particularly inwards have a broad reddish contour. In the other cells of the trichomes the gasvacuoles may either be missing or they may occur as minute reddish disks close to the transversal walls (Fig. 1). The new terminal cells of newly formed hormogones generally have no gasvacuoles. Sometimes, however, very small gasvacuoles are observed near the ends of such cells (Fig. 2), suggesting a change of the disklike bodies into true gasvacuoles. Thus, the formation of gasvacuoles is localized to the ends of the cells and within whole trichomes the development of the large gasvacuoles is sharply localized to the parts immediately behind the tips of the two terminal cells. A similar localization of gasvacuoles to terminal cells has been found by GEITLER in *Oscillatoria acuminata*, but within these cells no localization was established in this case.

Most observations were made in preparations made by some mud being mixed with water and shut up under a large cover glass provided with a rim of vaseline. *Pseudanabaena biceps* would live several weeks in such preparations. In some of the preparations all gasvacuoles disappeared and simultaneously the chromoplasm was withdrawn, apparently forming openings filled with centroplasma (Fig. 9). Any

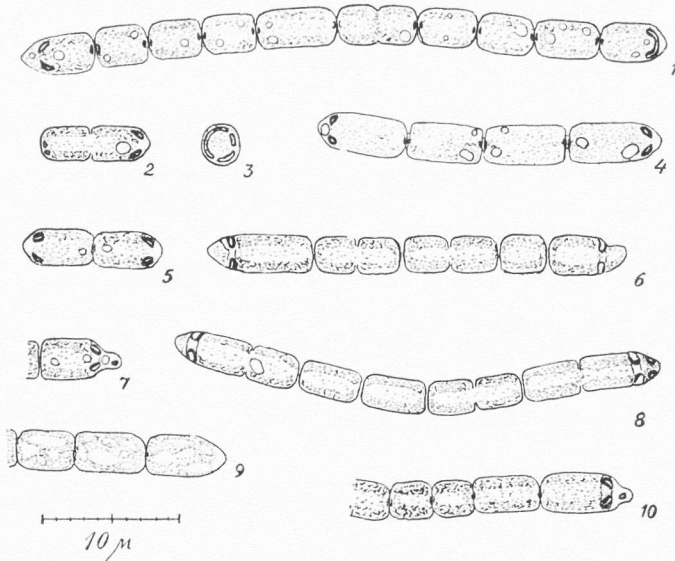


Fig. 1. *Pseudanabaena biceps*. 1. Short trichome with minute reddish disks at the transversal walls. — 2. Newly formed one-celled hormogonium to the left with initial gasvacuoles, the cell division has commenced. — 3. Terminal cell seen from the tip of the trichome. — 4. Trichome (hormogonium) without any differentiation between centro- and chromoplasma. — 5. Two-celled hormogonium. — 6. Short trichome with cells in division and one short rounded subterminal cell. — 7. Terminal cell with one supplementary gasvacuole in the tip. — 8. Short trichome with very distinct chromoplasma and two supplementary gasvacuoles (perhaps one supplementary ring- or horseshoe-shaped gasvacuole) on the right. — 9. Trichome without gasvacuoles, cp. text. — 10. Trichome with two young rounded cells and one supplementary gasvacuole in a colourless tip.

obvious cause of the disappearance could not be detected, but in spite of the mobility of the trichomes the conditions were hardly optimal.

The cells frequently contain 1—3 (very rarely 4) cyanophycin granules, which often lie near the walls or in terminal cells near the gasvacuoles.

The behaviour and structure of the new alga very much remind of *Oscillatoria* (the terminal cells, the occurrence of localized gasvacuoles, the movements). The characters distinguishing *Oscillatoria* and *Pseudanabaena* (the separated cells, the distinct chromoplasma) are not very important, as many species of *Oscillatoria* are constricted at the transversal walls and some of them may also have a distinct chromoplasma. Hence, it would perhaps be justified to regard *Pseudanabaena* as a subgenus of *Oscillatoria*.

I have examined a very large number of individuals of *Pseudanabaena biceps* and have not found heterocysts in any case. The young rounded cells, which may remind on heterocysts, lie most frequently two by two, but rarely one or three of them are seen in a chain of long cells. Such cases may be due to an unequal growth of two sister cells (cp. Fig. 6). If one rounded cell is left between old long cells, the picture reminds of that published by KOPPE for *P. constricta*. Thus, it cannot be excluded that *P. constricta*, too, lacks heterocysts.

In the preparations of bottom mud a number of other species occurred which at a first glance seemed to belong to *Pseudanabaena*. They were very slowly moving with long, rather separated cells and with a distinct chromoplasma. Later the referring to *Pseudanabaena* was abandoned. For the trichomes in question had sometimes sheaths and, thus, the movable parts might be the hormogones of some species of *Phormidium* or *Schizothrix*. As regards *Pseudanabaena biceps* it is not absolutely excluded that the trichomes are hormogones of some sheathbearing species. This possibility, however, is not very probable. I have eagerly searched for sheaths, but in vain. The trichoms seem to behave completely like those of *Oscillatoria*, which simply break into a number of hormogones. A sessile sheath bearing part producing the hormogones is presumably missing.

D i a g n o s i s. Cellulae trichomatis 2.7—3 μ latae, 3—7.5 μ longae, ad genicula inter se rotundatae; ambae terminales ceteris dissimiles, plus minusque acutae, vacuolo aereo apicali, annulari, continuo vel aliquoties interrupto plerumque instructae. Chromoplasma dilute glauco-aerugineum, a centroplastate plerumque manifesto discretum. Fila (hormogonia) (1)—2—45 cellularum observata, fluenter lapsa progredientia, saepe vivide.

Hab. in fundo limoso, foetido lacus Flyndersø Selandiae borealis.

References.

- CANNABAEUS, LOTTE 1929. Über die Heterocysten und Gasvakuolen der Blaualgen. — Pflanzenforschung, Heft 13, 1—48.
- GEITLER, L., 1925. Cyanophyceae. — Pascher: Süßwasserflora, Heft 12.
- 1932. Cyanophyceae. — Rabenhorst's Kryptogamenflora, Vol. 14, 1—1196.
- 1936. Schizophyceen. — Handb. d. Pflanzenanatomie Vol. 6, 1 B., 1—139.
- LAUTERBORN, R. 1915. Die sapropelische Lebewelt. — Verhdl. d. naturhist.-mediz. Ver. zu Heidelberg N. F. Vol. 13, 395—481.
- KOPPE, FRITZ 1924. Die Schlammflora der ostholsteinischen Seen und des Bodensees. — Archiv für Hydrobiologie Vol. 14, 617—672.

Progeny of triploid *Betula verrucosa* Erh.

By HELGE JOHNSON.

Forest Tree Breeding Institute, Ekebo, Källstorp, Sweden.

In an earlier paper (JOHNSON, 1944) the writer has described two spontaneous triploids of *Betula verrucosa* Erh. Another triploid *verrucosa* birch has been reported by LÖVE (1944). All three triploids have been found to possess extremely great sterility after open pollination. The results obtained from crossing experiments with two triploid *verrucosa* birches will be submitted below. One of them is the previously described tree from Kode in Bohuslän. The other has its station at Vänjasjön in Darlecarlia. This tree was discovered by dr. HUGO ÅGREN of Gävle, and the writer is indebted to him for information about it as well as material from it. Besides the two autotriploid *B. verrucosa* individuals, the experiments embrace diploid *B. verrucosa*, *B. pubescens* (a tetraploid species) as well as a 42-chromosomal individual that in all probability represents an F_1 of *B. pubescens* × *verrucosa* (JOHNSON, 1944). The crosses were carried out according to the method described by the writer (JOHNSON, 1945).

The extent of the crosses can be seen from Table 1, which also shows their fertility. In view of the fact that in ordinary variety crosses within *B. verrucosa* as well as *B. pubescens* and with the crossing technique employed the percentage of fruits with embryos usually averages about 50 and often amounts to over 80, it is clear that the fertility of the triploids is greatly reduced in all cross combinations as well as after open pollination. In a couple of the present crosses, however, the fertility is rather high. Thus, the cross 44—1, triploid Vänjan × triploid Kode, showed 12.45 % of fruits with embryos and the cross 45—16, triploid Vänjan × diploid (21—16), gave a corresponding figure of 21.80 %. On the basis of the experimental results hitherto attained it cannot be decided whether there is any fertility difference between triploid × triploid and triploid × diploid *B. verrucosa*. The fertility of crosses between triploid *B. verrucosa* × *B. pubescens* seems, however,

Table 1. Fertility of triploid *B. verrucosa*.

Cross No		Number of fruits		% fruits with embryo	Number of plants obtained
		with embryo	without embryo		
44—1	Triploid, Vänjan × Triploid, Kode	481	3.381	12.45	140
44—4	Triploid, Kode × Triploid, Vänjan	15	794	1.85	4
	Total for Triploid × Triploid	496	4.175	7.15	144
44—3	Triploid, Vänjan × <i>B. pubescens</i>	5	988	0.50	4
44—5	<i>B. pubescens</i> × Triploid, Vänjan.....	0	2.668	0.00	—
	Total Triploid × <i>B. pubescens</i> and reciprocal ...	5	3.656	0.25	4
45—15	Triploid, Vänjan × <i>B. verrucosa</i> A.	3	233	1.27	—
45—16	Triploid, Vänjan × <i>B. verrucosa</i> B.	177	635	21.80	—
	Total Triploid × <i>B. verrucosa</i>	180	868	11.54	—
44—2	Triploid, Vänjan × <i>B. (pubescens</i> × <i>verrucosa)</i> ...	0	306	0.00	—

to be decidedly lower than when triploid *B. verrucosa* is mated with forms of the same species. Between the two species *B. verrucosa* and *B. pubescens* there is also a strong sterility barrier (JOHNSON, 1945). Triploid *B. verrucosa* × triploid (*B. pubescens* × *verrucosa*) has not yielded any mature seed. Fruits with embryos are germinable in variety crosses up to practically speaking 100 %. However, from the triploid cross, which has given the greatest number of fruits with embryos, 481, the yield has been only 140 plants that have been sufficiently vital to survive the first summer. In spite of this, almost all embryos developed a little after the sowing, though a large number died at different stages of their earliest development.

The chromosome number of the triploid progenies is naturally of great interest, especially in view of the practical background of these experiments, *viz.* the raising of tetraploid individuals for breeding purposes. It has not been possible to follow the meiosis of the triploids in detail, but so much has become clear, that it is highly irregular with numerous trivalents and univalents (JOHNSON, 1944). The chromosome number of the progeny, however, is not only determined by the course of meiosis but also by the selection of gametes and zygotes that may occur. Within the progeny 44-1 the $2n$ numbers have been determined for 105 of the 140 plants, while the remaining 35 plants were too weak for fixation.

Table 2. Chromosome numbers and vitality of the progeny 44—1, triploid \times triploid *B. verrucosa*.

Heights of plants	Chromosome numbers											
	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
0—9 cm		5	8	9	8	11	9	2	5			1
10—72 cm	2	3	2	2	1	3	3	2	1	1	2	1
dead					1	2	2					
Totals	2	8	10	11	10	16	14	4	6	4	2	2
% of totals	1.90	7.62	9.52	10.48	9.52	15.24	13.33	3.81	5.71	3.81	1.90	1.90
Calculated frequencies	0.00	0.00	0.00	0.01	0.04	0.14	0.45	1.16	2.58	4.89	8.00	11.33

Heights of plants	Chromosome numbers											Total
	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	
0—9 cm	2					3			1			67
10—72 cm	2	2		1	1		1	1	1	1		33
dead												5
Totals	4	2	0	1	1	3	0	1	2	1	1	105
% of totals	3.81	1.90	—	0.95	0.95	2.86	—	0.95	1.90	0.95	0.95	99.96
Calculated frequencies	13.94	14.94	13.94	11.33	8.00	4.89	2.58	1.16	0.45	0.14	0.04	100.01

The results of the chromosome-number determinations are presented in Table 2. From these it is seen that plants have appeared with all $2n$ numbers between 29 and 51 except 43 and 47. If the 14 odd chromosomes are assumed to be distributed at random during meiosis, and no allowance is made for any selective elimination of chromosome numbers whether of gametes or zygotes, plants with different $2n$ numbers would have appeared in the frequencies given as »calculated» in the table. A comparison of the frequencies observed with those expected shows a very strong over-representation for $2n=29-37$, under-representation for $2n=38-47$, and a surplus, again, for $2n=48-51$. In all probability these conditions have been brought about by a powerful selective elimination of gametes and zygotes, chromosome numbers in the vicinity of $2n=2x$ and $2n=4x$ being favoured in this process. Autotriploid *B. verrucosa* then behaves in a manner characteristic of primary triploids (JOHNSSON, 1940), although the frequency of aneuploids is greater than in the majority of cases. The relative number of the aneuploids is not nearly so high as in clearly secondary polyploid triploids, such as the aspen (JOHNSSON, 1940, 1942). *Betula verrucosa* thus

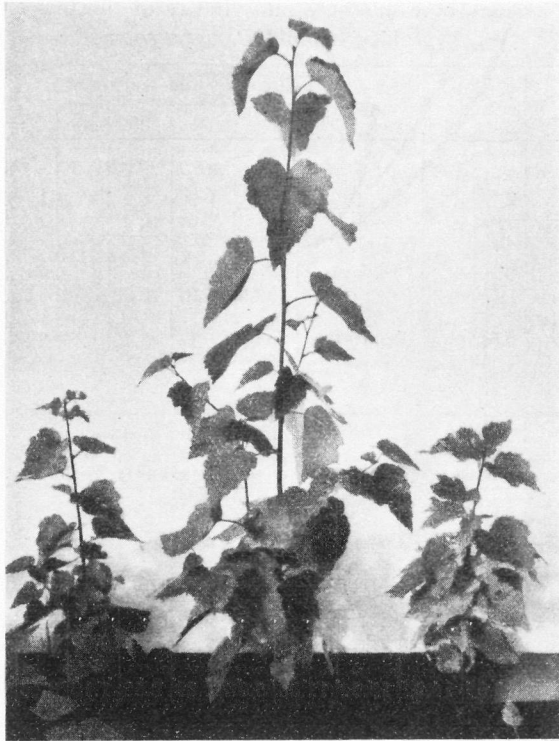


Fig. 1. Unequally growing plants. The middle one luxuriant. Chromosome numbers from left $2n=32$, 29 and 42.

behaves as a primary diploid in spite of its high basic number, $n=14$ (*cf.* LÖVE, 1944). A noteworthy feature is that no unreduced gamete appears to have functioned. A prerequisite for the formation of such must, however, be considered to have been present in the very irregular meiosis of the triploid. Whether any gamete with the exact diploid number, $n=28$, has functioned is not evident. Plants with $2n=42-51$ may have arisen through the union of a gamete having 28 chromosomes and one having another number. The plant with $2n=51$ may have resulted from the combinations $28+23$, $27+24$ and $26+25$ chromosomes under the presupposition that the chromosome distribution during meiosis is always $14-14$ plus a varying number of the odd chromosomes. The chromosome number $2n=51$ can also be conceived as arising through the conjugation of, *e.g.* a 37-chromosomal and a 14-

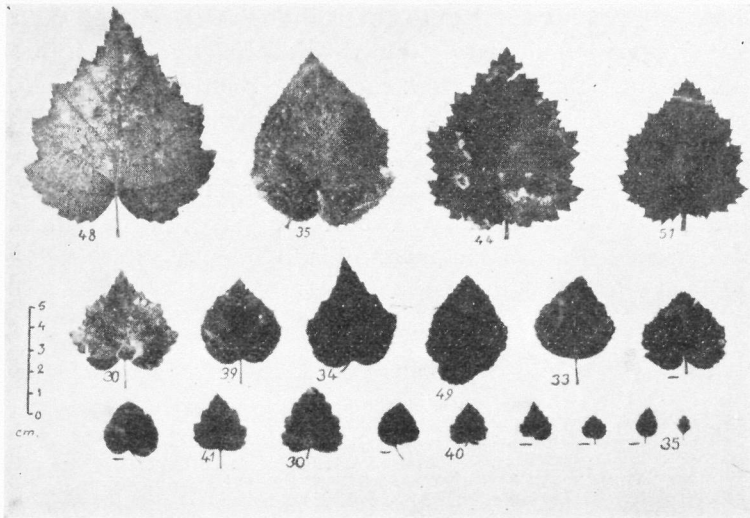


Fig. 2. Typical leaves of 19 plants. The chromosome numbers of the respective plants are given beneath the leaves.

chromosomal gamete. The 37-chromosomal gamete must in that case be regarded as an unreduced gamete at the formation of which five chromosomes had been eliminated in the plasm.

For the reciprocal cross 44-4 it has only been possible to determine the chromosome number of two plants. One has $2n=39$ and the other $2n=55$. The chromosome number of the latter plant probably arose through the combination $28+27$ or $41+14$. Under all circumstances there would seem to be suitable conditions present for the origin of exactly tetraploid plants in the progeny of crosses between autotriploid *B. verrucosa* individuals.

Chromosome counts on four plants within the progeny from the combination triploid *B. verrucosa* \times *B. pubescens* gave the numbers $2n=46, 48, 49$ and 51 .

The triploid progenies show, as was expected, a very strong variation in vitality and morphological characters, in so far as these come to expression in the young plants. As is evident from Table 2, the majority of the plants are very small, under 9 cm. Under the cultivating conditions employed a diploid *B. verrucosa* offspring reaches a height of about 50 cm. The tallest plant, however, reaches a height of 72 cm. the first year, which represents a very good growth. This plant has $2n=29$ and is the middle plant in Fig. 1. The plant to the left in the

figure has $2n=32$ and the one to the right $2n=42$. A good picture of the range of variation shown by the triploid progeny is given in Fig. 2, which shows one typical leaf from each of 19 plants. All leaf characters vary here in the highest degree. This is the case with leaf-size, leaf-form, serrature, and shaping of the leaf-base. No clear relation has been brought out between leaf characters and chromosome number. Probably, the great variation in the size of the leaves is only in part an expression of specific »leaf factors» and is to a larger extent a reflection of the general vitality of the plants.

Literature cited.

- JOHNSON, H. 1940. Cytological studies of diploid and triploid *Populus tremula* and of crosses between them — Hereditas XXVI.
— 1942. Cytological studies of triploid progenies of *Populus tremula*. — Ibid. XXVIII.
— 1944. Triploidy in *Betula alba* L. — Bot. Not.
— 1945. Interspecific hybridization within the genus *Betula*. — Hereditas XXXI.
LÖVE, A. 1944. A new triploid *Betula verrucosa*. — Svensk Bot. Tidskr. 38.
-

Om förekomsten av *Heppia euploca* (Ach.) Vain. i Sverige.

Jämte några ord om artens bålanatomi.

AV GUNNAR DEGELIUS.

I anslutning till BENGT PETTERSSONS arbete (1946) om *Heppia lutosa* (Ach.) Nyl. i Sverige kan det förtjäna nämnas några ord om den andra av våra två *Heppia*-arter, *H. euploca* (Ach.) Vain. [syn. *H. Guepini* (Del.) Nyl.], även den en stor sällsynthet hos oss, åtminstone efter hitillsvarande kännedom. Föreliggande meddelande är närmast föranlett av ett par nytillkomna fynd av laven.

Tidigare äro blott tre säkra svenska fynd kända av denna *Heppia*-art. Ett av dessa hör samman med den första beskrivningen av arten, vilken skedde på svenskt material. Det var ACHARIUS, som i Lich. svec. Prodr. (1798) uppställde den under namnet *Lichen euplocus* eller *Endocarpon* (»*Endocarpum*») *euplocum*.¹ (Han inför även ett svenskt namn: vecklaf.) Som insamlare anges i några av förf:s senare arbeten (1803, 1810) WESTRING. Närmare lokal saknas däremot; den noggrannaste uppgiften återfinnes hos ACHARIUS 1809 (s. 157): »På stenar i Östergöthland.»

Först år 1935, alltså 137 år efter det första påvisandet, kom det andra säkra meddelandet om ett svenskt fynd. MAGNUSSON publicerade då STENHOLMS några år tidigare gjorda upptäckt i Foss s:n i Bohuslän (MAGNUSSON 1935 s. 120). Det är alltså det första svenska fyndet med närmare lokaluppgift.

¹ Det har rätt oenighet betr. identifieringen av denna ACHARIUS' art. De flesta författare uppfatta den som en *Dermatocarpon*, närmast en småbladig varietet av *D. minutum* eller *D. fluviatile*. VAINIO (1921 s. 13) däremot anser sig efter granskning av ACHARIUS' typexemplar kunna identifiera *Lichen euplocus* med *Heppia Guepini* (Del.) Nyl. VAINIOS uppfattning är utan tvivel riktig. Att observera är särskilt förekomsten av soredier och cyanophycé-alger. Med hänsyn härtill skall arten alltså heta *Heppia euploca* (Ach.) Vain. I senaste bearbetningen av fam. *Heppiaceae* (GYELNIK 1935, 1940) föres laven ifråga till det av NYLANDER uppställda släktet *Peltula* och kallas *P. Guepini* (Del.) Gyel. Skall nämnda släkte upprätthållas, vilket emellertid närmare får utredas, måste arten heta *Peltula euploca*.

Tio år senare offentliggjorde samme förf. (MAGNUSSON 1945 s. 311) ett fynd gjort av honom själv vid Skansberget i Uddevalla. Arten uppträdde här riklig. Enligt benäget meddelande från insamlaren utgjordes växtplatsen av en sipperyta mot väster ned mot en strandäng blott någon dm över havets nivå. Laven var delvis rätt fördärvad av förorenat vatten. Tillsammans med den växte bl.a. *Staurothele Hazslinszkyi* och *Parmelia tinctoria*.

[Jag har här icke räknat med uppgiften hos WAHLENBERG 1812 (s. 462) angående *Endocarpon miniatum* β *pusillum* (till vilken som synonym föres *E. euplocum* Ach.) och icke heller med den hos E. FRIES 1825 (s. 37) om *E. fluviatile* β *euplocum*. Exemplar saknas. Uppgifterna kunna likaväl avse små *Dermatocarpon*-former.]

I aug. 1944 fann jag själv arten, på strandklippor strax söder om hamnen i Hästholmen i Östergötland. Det visade sig sedermera, att samma lav här samlats redan 1938, av R. SANTESSON, ehuru den icke blivit närmare bestämd. — Strandklipporna vid Vättern äro sedan länge kända för sin rika och växtgeografiskt intressanta lavflora, ännu dock långt ifrån tillräckligt utforskad. De rikaste fyndorterna äro enligt nuvarande kännedom belägna just vid Hästholmen samt i trakterna strax norr och söder därom (Omberg, Ödeshög). De ha varit föremål för undersökning av flera lichenologer. Se närmare THEORIN 1875 (s. 140), MALME 1892 (s. 130—132), 1915 (s. 249—251), 1918 a (s. 122), 1918 b (s. 295—297), DU RIETZ & SANTESSON hos STÅLBERG 1939 (s. 30, 44), DEGELIUS 1944 (s. 7—8). Själv har jag speciellt undersökt klippor och block inom och i närheten av Ombergs skyddsområde. Det var mer i förbigående som jag under besöket i dessa trakter också kom att studera lavfloran på porfyrrklipporna vid Hästholmens stränder.

DU RIETZ & SANTESSON (l.c.) urskilja två lavbälten på strandklipporna vid Hästholmen: ett nedre pyrenolichen-bälte och ett övre *Rhizocarpon geminatum* - *Lecanora argopholis* -bälte (motsvara i stort sett de bälten jag från Ombergs skyddsområde med omgivning markerat med numren 2 resp. 3, se närmare DEGELIUS l.c.). De intressantaste lavarterna här träffas i allmänhet i det övre bältet, såsom *Lecanora frustulosa* v. *argopholis* (rikligare och större än jag annorstädes sett den, även om fjällen medräknas; den förekommer här samhällsbildande, delvis tillsammans med den också rikligt företrädade *Lecanora macrocyclos*), *Caloplaca elegans*, *Physcia melops* (denna sistnämnda sågs av mig blott sparsam; först upptäckt i denna trakt av MALME). Det är emellertid i det nedre bältet, som *Heppia euploca* uppträder. Den växer ställvis ganska rikligt och huvudsakligen i kanten av finare sprickor i

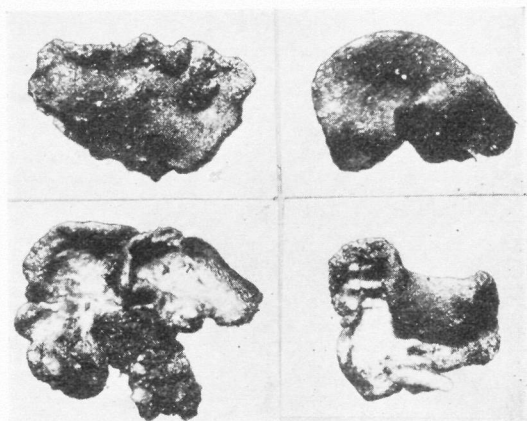


Fig. 1. *Heppia euploca* (Ach.) Vain. från Hästholmen: några löstagna yngre bålfjäll, sedda från översidan (övre raden) och undersidan (undre raden). Bårdsoredierna synas särskilt på övre vänstra exemplaret och nedre högra. 15 ×. —

Foto SVEN ERIKSSON.

berget. I m.e.l.m. direkt kontakt med den sågs bl.a. *Dermatocarpon fluviatile*, *Staurothele fissa* och *Lecanora muralis*, av alger (godhetsfullt bestämda av fil. lic. MATS WÆRN) *Scytonema Myochrous* (sensu JAAG) och *Stigonema* cfr *mesentericum*. Jag tog *Heppia*-arten vid insamlandet för en liten *Dermatocarpon*; först vid en senare företagen närmare granskning fastställdes identiteten.

Vid genomgång av det skandinaviska materialet av släktena *Dermatocarpon* och *Endocarpon* i Uppsala Botaniska Museum anträffade jag nyligen exemplar av *H. euploca* från ytterligare en svensk lokal, nämligen Dalsland: Ånimskog, samlat i juni 1870 av JOH. HULTING och bestämt till »*Endocarpon pusillum*» (namnet skrivet — med TH. M. FRIES' stil — med blyerts, vilket kanske häntyder på någon osäkerhet vid bestämningen). I Göteborgs Botaniska Trädgårds herbarium, där huvuddelen av HULTINGS samlingar finnes, ligger en rikhaltigare kollekt, försedd med den närmare lokaluppgiften »Henriksholm». Fyndet är publicerat hos HULTING 1900 (s. 81) såsom »*Endocarpon pusillum*». Här anges bergarten vara kloritskiffer. På samma stenbitar sitta *Staurothele fissa* och en liten pyrenopsidacé samt algerna (bestämda av WÆRN) *Gloeocapsa compacta*, *Stigonema informe*, *S. minutum*, *Scytonema* sp., *Dichothrix* sp. Sällskapet tyder på tidvis förekommande vattendränkning av lokalen.

De 5 hittills kända fynden av *H. euploca* i Sverige (och Norden) äro alltså kort sammanfattade (betr. herbarie-förkortningarna se DEGELIUS 1935 s. 307):

Bohuslän. F o s s: Munkedal, strax S om Kvistrums gästgivargård, i blockras. 1933 Carl Stenholm (G). (MAGNUSSON 1935 s. 120.) — U d d e v a l l a: Skansberget, sipperyta nära havet. 1942 A. H. Magnusson (M). (MAGNUSSON 1945 s. 311.)

Dalsland. Å n i m s k o g: Henriksholm. 1870 Joh. Hulting (G, U). (HULTING 1900 s. 81 s.n. *Endocarpion pusillum*.)

Östergötland. Närmare lokal och år okända. Westring (Hs, ex. ej sett av mig). (ACHARIUS 1809 s. 157, m.fl. arbeten.) — V. T o l l s t a d: Hästholmen, strandklippor vid Vättern strax S om hamnen. 1938 Rolf Santesson (R), 1944 Gunnar Degelius (A, Ds, Ht, L, R, U).

H. euploca tillhör det sydliga elementet i vår lavflora. Som framgår av ovanstående är den i Norden säkert känd blott från södra Sverige. I Mellan- och Sydeuropa har arten av litteraturen att döma en vid utbredning men är överallt m.el.m. sällsynt. Utbredningen omfattar också Nordamerika (liknande typer även annorstädes). Laven synes i huvudsak vara bunden till fuktiga lokaler, såsom sjöstränder, sipperytor o.dyl.

Denna *Heppia*-art liknar med hänsyn till sin allmänna habitus en liten *Dermatocarpion* eller än mer *Endocarpion* eller en *Lecidea* av undersläktet *Psora*. Bålfjällen äro tämligen små (hos svenska exemplar ofta blott några få mm breda), rundade, m.el.m. glest inskurna, ljusare eller mörkare bruna (undersidan blek), tilltryckta men senare uppstigande och sammanpackade till täta samlingar. Fjällen, som äro fästade vid underlaget med en navel, äro i kanten m.el.m. sorediösa, och härigenom skiljes arten habituellt lättast från de hos oss förekommande snarlika arterna av de nämnda släktena. Soredierna äro bårdsoredier, men på smalare lober te de sig ofta mer läpp- eller huvudlika. — Apothecier äro icke med säkerhet anträffade på svenska exemplar.

Till slut några ord om bälens anatomi hos denna art. Bålen är uppbyggd av ett m.el.m. tjockt övre och ett liknande undre plectenparenchym (paraplectenchym), där cellernas tjocklek är växlande (lumina 4,5—10,5 μ), samt däremellan av en luckrare vävnad av vanliga hyfer (3—4 μ breda), alltså en märgvävnad. Denna senare, som på alla av mig undersökta snitt är mycket markant, kan ställvis förvandlas till ett plectenparenchym. En genomgående plectenparenchymatisk bål har jag dock aldrig iakttagit. Algerna, tillhörande en cyanophycé (*Scytonema* eller *Stigonema*?) och vanligen bestående av små cellkolonier (där cellerna äro rundade eller mer oregelbundna, mestadels 8—13 μ i diam.,

med geléhöljen emellan sig), äro mestadels koncentrerade mot bälens översida och nå nästan upp till ytan, varigenom en övre bark knappast framträder. Av det sagda framgår, att bälén hos denna art är tydligt differentierad i olika lager (heteromer sensu WALLROTH) och icke genomgående plectenparenchymatisk.

Dessa iakttagelser överensstämma i allt väsentligt med de skildringar, som tidigare lämnats av SCHWENDENER (1863 s. 186 o. tavla X: 7) och HUE (1907 s. 37). De ha här relaterats, enär de avvika från den sista framställningen av fam. *Heppiaceae*, nämligen den hos GYELNIK 1935 och 1940. Denne sistnämnde förf., som med sin vanliga ytliga metodik uppenbarligen icke själv gjort några mer ingående undersökningar över arternas anatomi, har trots detta funnit lämpligt att med hänsyn till vissa prominenta karaktärer desavuera äldre fullt vederhäftiga forskare.¹ GYELNIK anger nämligen som familje-karaktärer bl.a. »thallus homoeomericus, omnino paraplectenchymaticus» (1935) och »Lager durchwegs paraplectenchymatisch und homöomer» (1940), vilket upprepas under alla släkten, även *Peltula* (dit GYELNIK räknar här ifrågavarande art). I arbetet 1940 (s. 112) anmärker förf. t.o.m. följande: »Allerdings können Flechten mit heteromeren und nur teilweise paraplectenchymatischen Lagern in die Familie der *Heppiaceae* nicht gestellt werden.» (Sic!) Det är icke blott *H. euploca* och närstående arter, som förhålla sig avvikande från GYELNIKS framställning, utan ett flertal andra; karaktärerna ifråga kunna växla hos samma art beroende på individets ålder m.m. (Jfr t.ex. SCHWENDENER l.c. s. 152 o. 178, HUE l.c., PETTERSSON l.c.) Det rätta förhållandet är alltså, att bälén hos fam. *Heppiaceae* kan vara såväl odifferentierad (homöomer) som differentierad (heteromer), såväl genomgående plectenparenchymatisk som icke.

Uppsala, Växtbiologiska Institutionen, i mars 1946.

Zusammenfassung.

Über das Vorkommen von *Heppia euploca* (Ach.) Vain. in Schweden. Nebst einigen Bemerkungen über die Thallusanatomie der Art.

Zu den drei bisher bekannten Funden der südlichen Flechtenart *Heppia euploca* (Ach.) Vain. [syn. *H. Guepini* (Del.) Nyl.] in Schweden (und Skandinavien) fügt Verf. zwei weitere. Siehe die Zusammenstellung S. 294. Die Art kommt an feuchten

¹ Så mycket egendomligare som GYELNIKS framställning i övrigt, åtminstone vad som rör *Peltula*-arternas yttre och inre byggnad, är en ren om än på sina håll något förkortad översättning av HUES arbete!

Felsen (Seeufeln, Sickerwasserfläcken u. dgl.) vor. Die schwedischen Exemplare sind klein und steril.

Verf. hat auch die Thallusanatomie der Art untersucht. Seine Resultate stimmen mit denen von SCHWENDENER (1863) und HUE (1907) überein. Der Thallus ist also differenziert (heteromer sensu WALLROTH) mit oberem und unterem Plektenparenchym sowie einem Mark; er ist somit nicht durchweg plektenparenchymatisch. (Die Algen sind gewöhnlich gegen die Oberseite des Thallus konzentriert.) Nach mehreren Autoren gilt dies auch für gewisse andere *Heppia*-Arten. GYELNIKS (1940) Behauptung in seiner leider sehr oberflächlichen Bearbeitung der Familie *Heppiaceae* in RABENHORST'S Flora, dass der Thallus der Heppiaceen immer »durchwegs paraplektenchymatisch und homöomer» sei (vgl. auch GYELNIK 1935), ist also unrichtig.

Citerad litteratur.

- ACHARIUS, ERIK, 1798, Lichenographiae svecicae Prodomus. — Lincopiae.
 — 1803, Methodus Lichenum. — Stockholmiae.
 — 1809, Förteckning på de i Sverige växande arter af Lafvarnes familj. — K. Vet. Acad:s Nya Handl., 30. Strengnäs.
 — 1810, Lichenographia Universalis. — Gottingiae.
- DEGELIUS, GUNNAR, 1935, Das ozeanische Element der Strauch- und Laubflechtenflora von Skandinavien. — Acta Phytogeogr. Suec., 7. Uppsala.
 — 1944, Lavfloran inom Ombergs skyddsområde. — K. Svenska Vet.-Akad. Skr. i naturskyddsärenden. N:r 46. Uppsala (Stockholm).
- FRIES, ELIAS MAGNUS, 1825, Stirpes agri Femsionensis. Cont. II. — Londini Gothorum.
- GYELNIK, V., 1935, De familia Heppiacearum. I—II. — Fedde, Repert., 38. Dahlem b. Berlin.
 — 1940, Heppiaceae. — Rabenhorst's Kryptog.-Flora von Deutschland und der Schweiz, 9: 2: 2. Leipzig.
- HUE, A., 1907, Heppiacearum, ultimae e familiae collemacearum tribubus nonnullas species morphologica et anatomice elaboravit. — Mém. Soc. Nat. Sc. Nat. Cherbourg, 36.
- HULTING, J., 1900, Dalslands lafvar. — Bih. K. Svenska Vet.-Akad. Handl. Bd. 26. Afd. III. N:o 3. Stockholm.
- MAGNUSSON, A. H., 1935, Några märkligare lavfynd, huvudsakligen från Västkusten. — Svensk Bot. Tidskr., 29. Uppsala.
 — 1945, New or Otherwise Interesting Swedish Lichens XII. — Bot. Not. 1945. Lund.
- MALME, GUST. O. A: N, 1892, Lichenologiska notiser. I—II. — Bot. Not. 1892. Lund.
 — 1915, Lichenologiska notiser. 1—6. — Svensk Bot. Tidskr., 9. Stockholm.
 — 1918 a, Samma arbete. 11—18. — Svensk Bot. Tidskr., 12. Stockholm.
 — 1918 b, Några ord om alpina lavars förekomst i barrskogsregionen. — Svensk Bot. Tidskr., 12. Stockholm.
- PETTERSSON, BENGT, 1946, *Heppia lutosa* (Ach.) Nyl. i Sverige. — Bot. Not. 1946. Lund.
- SCHWENDENER, S., 1863, Untersuchungen über den Flechtenthallus. II. Laub- und Gallertflechten. — Nägeli, Beitr. z. Wissenschaftl. Bot., 3. Leipzig.

- STÅLBERG, NILS, 1939, Lake Vättern. Outlines of its Natural History, especially its Vegetation. — Acta Phytogeogr. Suec., 11. Uppsala.
- THEORIN, P. G. E., 1875, Ombergs Lafvegetation. — Öfvers. K. Vet.-Akad. Förh. 1875. N:o 1. Stockholm.
- WAHLENBERG, GEORGIUS, 1812, Flora Lapponica. — Berolini.
- VAINIO, EDV. A., 1921, Lichenographia fennica. I. — Acta Soc. pro Fauna et Flora Fenn., 49. Helsingforsiae.
-

Smärre uppsatser och meddelanden.

Utgången förekomst av *Sonchus palustris*.

I anledning av lektor SUNESONS uppsats om *Sonchus palustris* i förra häftet av Botaniska Notiser (1946: 1) erinrar jag mig ett fynd av denna art, som jag på sin tid gjorde på Rå ängar S om Hälsinborg. Vid en exkursion till dessa för botaniserande hälsingborgare så välkända ängar den 2 augusti 1935 påträffade jag i en liten *Phragmites*-vassrugg 2 blommande stånd av *Sonchus palustris*. Växtplatsen låg nära stranden av Öresund och ej långt från skyttepaviljongen. Alldeles i närheten fanns ett tillfälligt nöjestivoli. Om lokalens beskaffenhet har jag för övrigt bara antecknat, att tillsammans med de nämnda arterna också växte *Urtica dioica*. Den 21 juli 1936 besökte jag ånyo lokalen. Även nu funnos 2 höga blommande stånd men därjämte 2 mindre med outslagna blomkorgar. Sedan hade jag icke tillfälle att besöka lokalen förrän sommaren 1939 (datum har jag icke antecknat). Jag kunde då icke finna minsta spår av *Sonchus palustris*. Växtplatsen var rätt illa åtgångna av s.k. campare, nertrampad och skräpig.

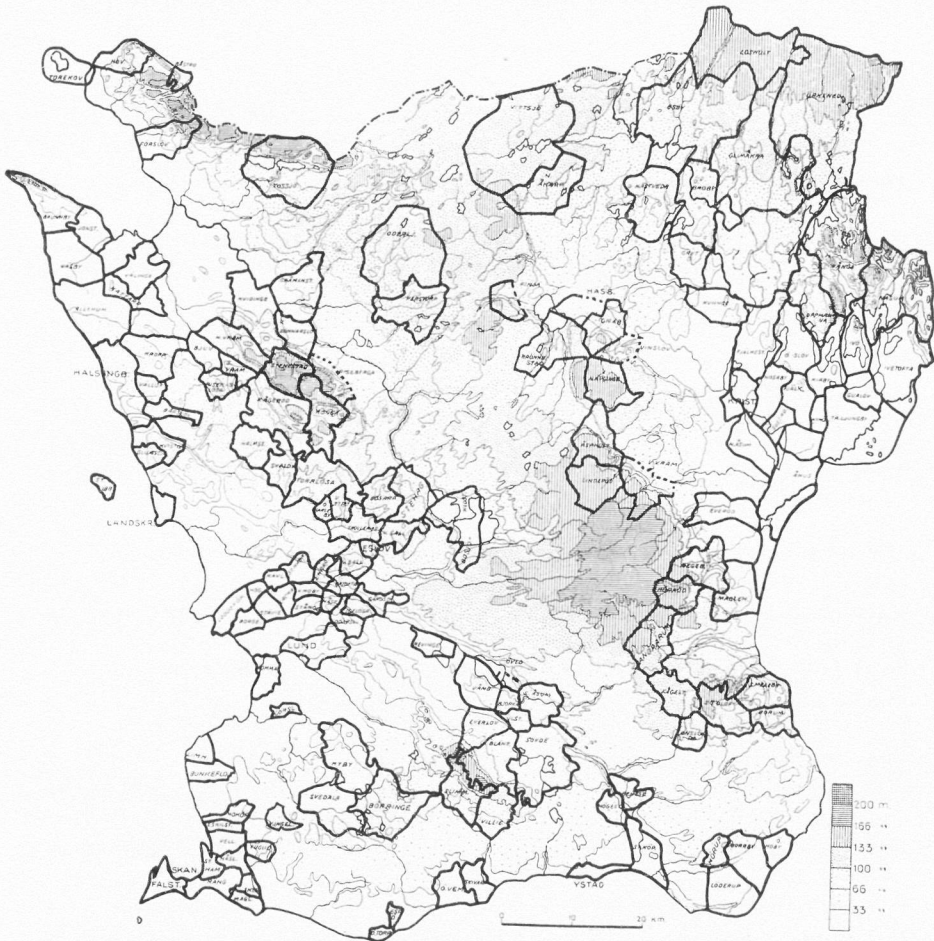
Lokalen, sådan jag såg den 1935 och 1936, gjorde på mig intryck att vara fullt typisk. Jag hade tidigare sett vackra förekomster av *Sonchus palustris*, nämligen vid stranden av Stora Bält i närheten av Hesselagergaard på Fyn. Det synes mig alltså icke onaturligt att antaga, att det vid Rå var fråga om en spontan invandring från Danmark av samma slag som den av SUNESON 1945 upptäckta förekomsten vid Ljunghusen och de äldre, numera utgångna förekomsterna vid Bjärred och Sjölanda.

ÅKE UDDLING.

Ny biologisk tidskrift.

Från botaniska institutionen vid Lissabons universitet (Instituto Botânico da Faculdade de Ciências de Lisboa) har börjat utgivnas en ny internationell tidskrift »Portugaliae Acta Biologica, Série A» under redaktion av B. D'OLIVIERA, F. RESENDE och J. A. SERRA. Tidskriftens ämnesområde är morfologi, fysiologi, genetik och allmän biologi (inklusive cytologi) och språket portugisiska, franska, engelska eller tyska. Originalavhandlingar eller kritiska översikter ej överstigande 50 sidor mottagas. Hittills ha två häften utkommit, vilkas innehåll och redigering är förstklassigt. Då tidskriften även på relativt gynnsamma villkor torde stå öppen för svenska medarbetare, är den värd att uppmärksammas.

A. MÜNTZING.



Inventeringen av Skånes Flora.

Under år 1945 fortsattes arbetet med utforskandet av den skånska floran på liknande sätt som under tidigare år.

Registreringen. Registreringsarbetet har under året bedrivits med stor intensitet: omkr. 50.000 lokaluppgifter ha kunnat införas i kortkatalogen. Detta arbete har med tillstånd från Statens arbetsmarknadskommission huvudsakligen utförts av baltiska flyktingar. Därjämte har den tryckta litteratur, varifrån utbredningsuppgifter hämtats, blivit fullständigt uppförd på registerkort. Vidare har ett register påbörjats över publicerade utbredningskartor av skånska växter. Telegrafkommissarie HENNING NILSSON har varit sysselsatt

med att införa vissa arter i det slutliga registret och har samtidigt karterat dessa arter.

Fältarbetet. De tidigare påbörjade områdena ha nu i stor utsträckning blivit utforskade. Följande nya socknar ha under 1945 påbörjats (jfr redogörelserna i Bot. Not. 1939, s. 397—398; 1940, s. 239—240; 1942, s. 95—96; 1943, s. 161—162; 1944, s. 121—123; 1945, s. 174—175):

Andrarum: TURE HULTHÉN
 Bunkeflo: TYCHO NORLINDH
 Fjälkinge: GUNVOR WIDEHOLT
 Glimåkra: TYCHO NORLINDH
 Gustav Adolf: GUNVOR WIDEHOLT

Halmstad: MARG. OVERTON-HAIKOLA
 Hörröd: TURE HULTHÉN
 Hörup: NILS JOHANSSON
 Limhamn: TYCHO NORLINDH
 Stehag: BRITA NILSSON

De undersökta socknarnas läge och storlek framgå av omstående karta, där de markerats med bred ram. (Då blott en del av en socken undersökts, har detta utmärkts med en bred, bruten linje.) Det undersökta området utgör nu omkr. 5.000 kvkm, d.v.s. 45 % av hela landskapet.

Specialiser på olika kryptogamgrupper, mossor, lavar, svampar, ha liksom under tidigare år varit verksamma inom landskapet.

Förutom dessa sockeninventeringar ha en del medarbetare specialiserat sig på vegetationsforskning: undersökningar ha sålunda bedrivits över vissa jordmossors utbredning och ekologi, över sandvegetationen i östra Skåne, över olika bokskogstyper samt över sjövegetationen. Odlingar ha företagits för att utröna ekotypdifferentieringen hos vissa arter, hemmahörande i myrar, samt för att klargöra de suboceaniska arternas utbredning i Skåne med hänsyn till underlagets kalkhalt och pH.

Skrifter. Av serien »Bidrag till Skånes Flora» ha under 1945 följande undersökningar publicerats:

31. Förekomsten av *Petasites hybridus* i Skåne (GÖSTA ILIEN).
32. Pehr OSBECK och Skånefloran (OTTO GERTZ).
33. Floran i Hjärsås (JOSEF SJÖGREN).

Under år 1945 höll sektionen Skånes Flora två sammanträden:

den 28 februari med föredrag av förf. MÅRTEN SJÖBECK om »Vegetation och kulturinflytande i Kullabygden»:

den 24 november med föredrag av amanuens ANN-MARIE BRÜDIGAM om »Ystad sandskog» och amanuens KNUT ERIKSSON om »Floran i Perstorp socken».

Sektionen Skånes Flora vill framföra sitt värdsamma tack till

Kungl. Fysiografiska Sällskapet i Lund, som genom anslag av 700 kronor möjliggjort för yngre studerande att företaga fältundersökningar.

samt till alla dem, som på ett eller annat sätt deltagit i arbetet.

Arbetsutskottet.

Det Pehr Osbeck tillskrivna herbarieexemplaret av *Helosciadium repens*.

I senast utgivna häfte av Botaniska Notiser omnämnde jag (p. 48) en i brev från PEHR OSBECK till LINNÉ den 9 april 1772 meddelad färglagd teckning av en umbellatväxt, vilken vid undersökning befunnits vara *Helosciadium repens* (Jacq.) Koch. I skrivelsen uppger OSBECK, att han av ifrågavarande »umbellata fig[urata]», vilken tillhörde hans dåvarande dubia, »icke har mer än et exemplar». Då anförda växt i brevet till LINNÉ nämnes tillsammans med ett par andra, vilka OSBECK insamlat i Halland, satte jag i fråga — om ock med all reservation — huruvida icke även den — *Helosciadium repens* — kunde härröra från Halland och vara att betrakta som en i Sverige hittills förbisedd art.

Diskussionen i denna fråga har kommit i annat läge, därigenom att original-exemplaret till den anförda teckningen kunnat uppspåras. Assistenten vid Riksmuseum, fil. doktor TH. ARWIDSSON har sålunda i brev den 1 april meddelat mig, att han i därvarande Herbarium antiquum gjort det oväntade fyndet av en *Sium repens*, som otvivelaktigt legat till grund för den av OSBECK sända teckningen. Detta framgick också med full evidens vid granskning av herbarieexemplaret i fråga, vilket doktor ARWIDSSON välvilligt tillsänt mig i Lund. Överraskande var också påskriften å herbariepapperet, vilken synes ge vid handen, att exemplaret alls icke tillhört OSBECKS herbarium, trots den vilseledande uppgift han därom lämnar i brevet till LINNÉ. Någon anteckning av OSBECK förefinnes där icke, men å papperets baksida läses: *Sium repens*, Dahl a D^r Schreber, Buzow. Handstilen är ANDERS DAHLs egenhändig.

JOHANN CHRISTIAN DANIEL [VON] SCHREBER (¹⁷/₁ 1739—¹⁰/₁₂ 1810), som sålunda skulle ha insamlat herbarieexemplaret, stod ingalunda främmande för Sverige och svenska förhållanden. År 1760 vistades han i Uppsala såsom LINNÉs lärjunge, varefter han återvände till Tyskland och 1761 utnämndes till professor vid den nyinrättade Mecklenburgska akademien i Bützow, i själva verket Rostocks universitet, som åren 1760—1789 förlagts dit. Denna tjänst lämnade SCHREBER år 1764, då han kallades till Leipzig och sedermera (1770) till Erlangen. Han blev 1776 — ovisst vilken dag — ledamot av Fysiografiska Sällskapet i Lund, ⁹/₅ 1787 av Svenska Vetenskapsakademien. Han utgav flera upplagor av sin högt skattade lärofader LINNÉs arbeten, såsom *Materia medica* (ed. 2, 1772; ed. 4, 1782; ed. 5, 1787), *Genera plantarum* (ed. 8, 2 bd, 1789—91) samt *Amoenitates academicae* (10 vol., 1785—90).

Det exemplar av den för honom till arten obekanta *Helosciadium repens*, SCHREBER skänkte ANDERS DAHL, hade han, såsom av anteckningen å herbariearket framgår, anträffat i trakten av Bützow i Mecklenburg-Schwerin, och vad tiden angår, uppenbarligen något av de år han där vistades, mellan 1761 och 1764.

Vanskligare ställer det sig att söka fastställa, när DAHL blev ägare av det Schrebarska herbarieexemplaret. ANDERS DAHL (¹⁷/₃ 1751—²⁵/₅ 1789) blev student i Uppsala 1770 och innehade efter år 1775 avlagd examen under ett tiotal år (1775—1786) tjänst som assistent vid kanslirådet CLAES ALSTRÖMERS naturaliekabinett och botaniska trädgård. Beträffande hans herbarium under studentåren har på sin tid JOHAN LINDWALL (Bergianska brevsamlingen; Bo-

taniska Notiser, 1890, p. 109) lämnat upplysningar. Enligt dessa omfattade DAHLS herbarium år 1772 omkring 2000 arter, varav de icke så få utländska samtliga uppgivas härröra från Uppsala botaniska trädgård. Några brev till och från DAHL, som kunde lämna upplysning beträffande det omdebatterade herbarieexemplaret, synas icke vara kända, men det är bekant, att han redan tidigt stått i livlig skriftväxling med framstående botanister såväl i Sverige som i utlandet.

Sium (*Helosciadium*) *repens* beskrevs först år 1775 av bergsrådet, professor NICOLAS JOSEPH [VON] JACQUIN i Wien i dennes stora praktverk Flora Austriaca (vol. 3, 1775, p. 34), där växten även finnes konstnärligt avbildad (Tab. 260). DAHLS anteckning kan sålunda, vad artnamnet beträffar, först ha tillkommit år 1775. Det är anmärkningsvärt, att detta namn tillskrivits med annat bläck än DAHLS anteckning i övrigt och med all säkerhet senare än släktnamnet *Sium* och de övriga ord han antecknat. Det är möjligt, att denna DAHLS påskrift gjorts först år 1781, då arten *Sium repens* omnämnes av CARL VON LINNÉ Fil. i Supplementum plantarum (p. 181) och därmed blev för botanisterna i Sverige närmare bekant.

Då avbildningen av exemplaret i fråga av OSBECK sänts till LINNÉ redan år 1772 och OSBECK då haft exemplaret i sina händer, torde denne efter allt att döma mottagit det såsom lån från DAHL i och för växtens bestämning. Bortsett från OSBECKS något förvillande uppgift i brevet till LINNÉ beträffande en »umbellata fig[urata], hwaraf jag icke har mer än et exemplar», vilket kunde tolkas som antydning om att OSBECK ägde arten som innominata i sitt herbarium, finnes det ingenting som tyder på att så varit förhållandet. Av den förteckning, OSBECK i sitt interfolierade handexemplar av LINNÉS Nomenclator Botanicus (1772) upprättat över sitt herbarium, framgår (sp. 72), att han där ägde exemplar av 5 *Sium*-arter (*latifolium*, *angustifolium*, *nodiflorum*, *Sisarum* och *Falcaria*). Däremot har icke, såsom jag redan i min tidigare uppsats framhållit, *Sium repens* genom någon anteckning markerats såsom ingående i herbariet. Men väl finnes *Sium repens* med dess diagnos tillskriven med hänvisning till LINNÉ Fil. Supplementum plantarum (1781). Om denna anteckning jämte ett stort antal andra i boken gäller emellertid vad OSBECK i samma arbete anmärkt: »Differentiae specificae har jag tilskrefwit på rena bladen på en del europeiske örter, som kanske kunde, til någon del åtminstone, finnas i Sverige.» Redan då jag offentliggjorde min förra uppsats, hade jag genomgått OSBECKS stora handskrift Utkast til en Beskrifning öfver Laholms Proherbarium, dess Naturalhistoria, Wäxtriket (1789 [1796]), och därvid övertygat mig om, att någon umbellat där icke av honom beskrivits, som kunde passa in på den avbildade *Sium repens*, och jag hade tytt detta så, att växten var för OSBECK obekant vid den tiden, då han sammanskrev nämnda arbete. En undersökning av vattenstämpeln i papperet visar å det Schreberska exemplaret ett D & C Blauw, vilket tecken ej återfinnes å herbariearken i OSBECKS växtsamling, där papperet antingen saknar dylik stämpel eller visar konturerna av en 7-strålig blomma eller ock har märket *Pro patria* [GP].

Vad proveniensen för det ur skilda synpunkter intressanta herbarieexemplaret av *Helosciadium repens* beträffar, får det sålunda anses fastställt, att det insamlats av SCHREBER något år mellan 1761 och 1764 i trakten av

Bützow i Mecklenburg-Schwerin, att det i början av 1770-talet som gåva torde förvärvat av den unge, föga mer än 20-årige studenten ANDERS DAHL samt av honom för bestämning sänts till PEHR OSBECK, som i sin tur gjort hänvändelse till LINNÉ för att få den då ännu obeskrivna arten identifierad. DAHL torde sedermera ha återfått herbariearket och år 1775 eller 1781 där påskrivit namnet [*Sium*] *repens*. Under hänvisning till denna utredning förfaller givetvis varje reflexion om, att exemplaret i fråga kunde härleda sig från OSBECKS egen insamling i Sverige.

Svårare blir det att förklara, huru exemplaret kommit till Riksmuseum. ANDERS DAHL, som år 1786 blev med. doktor, utnämndes följande år till med. adjunkt och botanices demonstrator i Åbo. Han avled där 1789, men hade redan 1786 till Åbo akademi överlätit sina rika och omfattande naturvetenskapliga samlingar, däribland herbariet, som räknade omkring 6.000 arter. Dessa samlingars öde blev emellertid att gå förlorade vid den förödande brand, som år 1827 övergick staden. Hans exemplar av *Sium repens* hade tydligen före DAHLS överflyttning till Åbo införlivats med någon annan växtsamling i Sverige. Man skulle härvid våga den gissningen, att DAHL något av de 11 år han förestod CLAES ALSTRÖMERS naturaliekabinett och med särskilt intresse och nit ägnade sig åt vården av dennes botaniska samlingar, skänkt dit ifrågasvarande herbarieexemplar. Detta skulle då efter kanslirådet ALSTRÖMERS död 1794 med dennes stora växtsamling kommit till Riksmuseum, där nämnda samling utgör en betydande, integrerande del av Herbarium antiquum.

Av den utredning jag lämnat har också framgått, att *Sium* (*Helosciadium*) *repens*, vilken först år 1775 beskrevs såsom art, redan mer än ett decennium tidigare anträffats i Mecklenburg av SCHREBER, ehuru detta först i sen tid kunnat fastställas. Mecklenburg såsom utbredningsområde för *Helosciadium repens* anföres i litteraturen först år 1826 av MERTENS och KOCH (bd 2, p. 445).

Lund den 4 april 1946.

OTTO GERTZ.

Litteratur.

GERTZ, O. Kungl. Fysiografiska Sällskapet i Lund 1772—1940. Historisk överblick och personförteckningar. Lund 1940. — Sammanställning av biografier över ALSTRÖMER, DAHL, JACQUIN, OSBECK och SCHREBER.

— Ett märkligt växtfynd av Pehr Osbeck från 1770-talet. *Helosciadium repens* (Jacq.) Koch funnen i Sverige? (Botaniska Notiser. 1946. p. 48).

— Oshult och Gåsevadhholm. Tvenne botaniska trädgårdar i Halland på Pehr Osbecks tid. (Meddelanden från Göteborgs Botaniska Trädgård. Bd 16. 1946. p. 229).

JACQUIN, N. J. *Floræ Austriacæ sive Plantarum selectarum in Austriæ Archiducatu sponte crescentium Icones*. Vol. 3. Viennæ Austriæ. 1775.

LINDWALL, J. Om några enskildes herbarier i Norden 1772. Meddelande till Banco-Commissarien B. BERGIUS. (Botaniska Notiser. 1890. p. 105).

MERTENS, FR. C. & KOCH, W. D. J. J. C. Röhlings Deutschlands Flora. Bd 2. Frankfurt am Main 1826.

Övrig litteratur, som citerats, återfinnes i mitt ovan anförda arbete (1946, p. 52).

Ny skånsk lokal för *Primula elatior*.

Vid en excursion till trakten av Vombsjön den 4 maj 1946 fann jag vid den sydöstra sidan av sjön, några hundra m från den numera brunna gården Äskebäskan i Vomb socken ett litet bestånd av *Primula elatior* (L.) Hill. Arten växte där på ett begränsat område under hagtornsbuskar på fuktig mark i bok-ekskogsbrynet. Den förekommer icke i den gamla trädgården eller vid tomplatsen till Äskebäskan, varför det förefaller föga sannolikt, att den skulle ha förvildats från en gång odlade exemplar.

Fyndet har föranlett mig att i litteratur och herbarier efterspana, huruvida *P. elatior* tidigare varit känd utanför det välbekanta området inom Öved socken (»Bjersjölagård, Skartofta, Tulesbo, Öfvedskloster» [ARESCHOUG, Skånes flora, andra uppl. 1881, s. 125]). Detta område är tämligen sammanhängande och utgöres av skogarna norr och nordost om Vombsjön.

Första gången *P. elatior* uppgives för Sverige är av LECHE i Primitiae Florae Sueciae 1744, då han meddelar lokalen »Öfvidskloster».

Förutom från Övedsområdet har emellertid *P. elatior* meddelats såsom vildväxande på Kullaberg. Så angives under rubriken »Skånska växter upptäckte 1838» i Botaniska Notiser för år 1839, s. 48: »*Primula elatior* bland *acaulis* på Kullaberg, Ringius». Denna uppgift kommer igen i ARESCHOUG, Skånes Flora, första uppl., 1866, s. 48 och i LILJA, Skånes Flora, andra uppl., 1870, s. 116: »Kullaberg i Bökebolsvång, (Söderwall)». I tillägg ändrar dock LILJA, l.c., s. 794 bestämningen till *P. variabilis* Goupil, vilket i själva verket är identiskt med *P. veris* × *vulgaris*. Han skriver: »Bergiga skogsängar, sällsynt, Kullaberg i Bökebols vång bland följ.» — d.v.s. *P. vulgaris* — »(sänd av Söderwall under namn av *elatior*, hwars växtställe i Kullen utgår i boken; förut sänd af Gyllenstjerna till Fries, som antager den såsom en stängelbärande form af följ.». I andra uppl. av ARESCHOUGS flora upptages ej längre Kullaberg som fyndort för *P. elatior*.

I Botaniska Notiser för år 1851 publicerar N. C. Gyllenstjerna en »Förteckning på de Phanerogama växter, Ormbunkar och Mossor, hvilka blifvit iakttagne på och omkring Kullaberg i nordvestra Skåne». Han meddelar där (s. 73) fynden av *Primula grandiflora* Lam. (var.) *exscapa* och *scapigera*, om vilka han (s. 83) tillägger: »Båda formerna, *exscapa* och *scapigera*, förekomma blandade med hvarandra ofta från samma rot, i Råhagen och ängen vid Gylleröd ymnigt, i Bökebols vång och Krapperups park, sparsamt». I en uppsats av GERTZ i Skånes Natur 1936, s. 59, 60 har följande hämtats ur BROR EMIL HILDEBRANDS självbiografi (H. var informator på Krapperup 1828, 1829): »Under nästan dagliga excursioner gjorde vi samlingar och anteckningar till en beskrifning öfver bergets och det angränsande slättlandets vexter, bland hvilka äfven träffades nykomlingar till Sveriges flora, t.ex. *Primula acaulis* och *elatior* m.fl.».

De fynd från Kullaberg, som åsyftas under namn av *Primula elatior* och åtminstone delvis *P. grandiflora* (vilken senare är synonym till *P. vulgaris*) torde vara att hänföra till *A. veris* × *vulgaris*. Detta bestyrkes av ett i Lunds Botaniska Museums samlingar bevarat exemplar, insamlat av J. N. AGARDH i maj 1867 på »Kullaberg vid Bökebol» och av insamlaren bestämt till *Primula elatior*. Enl. en senare anteckning representerar dock detta exemplar (som rätt

mycket liknar *P. elatior*) *P. variabilis*, d.v.s. just *P. veris* × *vulgaris*. Den senare bestämningen är otvivelaktigt riktig.

Ytterligare en uppgift om ny fyndort för *Primula elatior* i Skåne föreligger i Botaniska Notiser för år 1933 i en uppsats av H. G. SIMMONS. Han säger där (s. 353), att arten skulle ha anträffats i »Dalby, vid landsvägen mellan byn och Kronedal 1880, ett individ av den normala vildformen». Redan uppgifter »vid landsvägen» tyder på att det ej gärna kan vara fråga om en vildväxande typ, och något fynd av arten har ej gjorts i denna trakt vare sig förr eller senare.

Min uppfattning är således den, att *P. elatior* ej tidigare påvisats såsom vildväxande från någon annan lokal i Skåne än från Övedsområdet. Den nya lokalen i Vomb är belägen omkr. $\frac{1}{2}$ mil söder därom.

H. WEIMARCK.

Ny skånsk lokal för *Ornithopus perpusillus*.

Sommaren 1943 påträffade jag en ny lokal för *Ornithopus perpusillus* i Löddeköpinge socken, c. 800 m NV Jordbroskogen. Ungefär 25 ex. växte på en hed, planterad med tall. Den 25 juni funnos såväl blommor som baljor. Plantorna föredrogo de öppna ytorna mellan ljungtuvorna, där *Rumex tenuifolius* dominerade. F. ö. antecknades *Anthemis arvensis*, *Carex arenaria*, *Filago minima*, *Helichrysum arenarium*, *Hieracium pilosella*, *Luzula campestris*, *Jasione montana*, *Plantago lanceolata*, *Scleranthus annuus*, *S. perennis*, *Teesdalea nudicaulis*, *Trifolium procumbens* och *Viola arvensis*.

Vid förnyat besök på platsen den 18 maj 1946 iakttogos ett tiotal åtminstone delvis övervintrade ex. av arten i närheten av den ursprungliga fyndlokalen. Även detta område har man för avsikt att plantera. Växtplatsen har enligt uppgift hittills använts till fårbeta. Vid tillfället noterades förutom förut nämnda arter *Corynephorus canescens*, *Polytrichum piliferum*, *Rhacomitrium canescens* och *Rhytidadelphus squarrosus*. Substratet utgöres av lerhaltig mellansand.

ASTA LUNDH.

Från Lunds Botaniska Förenings förhandlingar 1945.

Den 1 februari. — Talade dr phil. PAUL GELTING om »Kusttyper på Bornholm och deras vegetation».

I norr omges ön av en utpräglad klippkust, ofta uppvisande de karakteristiska marina lavzonerna, det svarta *Verrucaria maura*- och det grå *Lecanora rupicola*-bandet. På ostkusten förekomma bl.a. strandängar med sådana karaktärsväxter som *Trifolium fragiferum* och *Aster tripolium*. I skarp motsättning till de föregående stå klintstränderna på sydkusten. Moränbranterna här äro klädda med en torr ängsvegetation, dominerad av *Avena pratensis*. Omväxlande med klintarna utbreda sig dynstränder med *Elymus arenarius* m.fl.

Den 20 mars. — Revisionsberättelserna för arkivariens, sekreterarens, redaktörens och kassörens räkenskaper för år 1944 godkändes och räkenskapsförarna beviljades ansvarsfrihet.

Höll fil. lic. AXEL NYGREN föredrag över »Problem inom släktet *Calamagrostis*».

Calamagrostis-arterna uppdelas i tre grupper, varav de två ha ett konstant kromosomtal. Den tredje gruppen äger flera kromosomtal, ex. *C. purpurea* och *lapponica*. Flera hithörande arter äro apomikter, men *C. epigeios* m.fl. äro sexuella korsbefruktare.

C. purpurea kan föras tillbaka till den sexuella *C. canescens* samt till de likaledes sexuella bastarderna *C. canescens*×*epigeios* och *C. canescens*×*neglecta*. Genom fördubbling av kromosomtalet har en apomiktisk typ uppkommit.

Den 28 april. — Föredrogs revisionsberättelsen för 1944 års växtbyte. Till revisorer för 1945 års växtbyte omvaldes fil. kand. TORE DONNÉR och nyvaldes amanuens TORSTEN HÅKANSSON.

Höll docent BERTIL LINDQUIST föredrag om »*Betula callosa* Notö, en förbisedd björkart i den skandinaviska fjällskogen».

Föredragshållaren hade vid populationsanalyser i Kvickjokk iakttagit en fjällbjörk, som i flera karaktärer, ex. stammens »styvhet», skiljer sig från *B. tortuosa*. Den har tidigare beskrivits av ANDREAS NOTÖ från Tromsö under namnet *B. callosa*. Den förekommer från Dovre i söder över Härjedalen och Jämtland till högfjällen längst i norr. I Finland tycks den saknas.

På östra Island har i lager från miocen hittats avtryck av hängfjäll och blad, som nära ansluta till den recenta *callosa*, som nu växer endast tre mil från den fossila fyndorten.

Därefter demonstrerade docent HENNING WEIMARCK ett fynd av *Schoenus ferrugineus* × *nigricans*. Fyndlokalen, ett kärr i Örup, hade upptäckts av amanuens STIG WALDHEIM.

Den 10 maj. — Vårexkursionen förlades till Ringsjötrakten. Förbi Karlslund, där vegetationen i en planterad granskog studerades, gick färden mot Sätofta. Under vägen sågo deltagarna en typisk hedbarrskog med lingon, ljung, *Pleurozium Schreberi* och *Hylocomium splendens*. I samband med silurberggrundens uppträdande tillkommo ängsskogar med ex. *Melica uniflora* och *Milium effusum*.

Vid Nyby fann färdledaren, docent HENNING WEIMARCK, hybriden mellan *Prunus insititia* och *spinosa*. Lillö, som var nästa mål uppbygges av basalt, och marken är därför synnerligen näringsrik. Bokskogarna visade prov på en artrik flora med bl.a. *Campanula latifolia*, *Poa nemoralis*, *Polygonatum multiflorum* och *Anemone ranunculoides*. Ett besök gjordes också vid jätteasparna.

Efter lunchpausen vid Bosjökloster företogs en promenad längs Ringsjöns strand till Sjöholmen. Vid sundet mellan V. och Ö. Ringsjön studerades ett stort bestånd av *Petasites spurius*, en art, som sannolikt införts av munkar. Murklan *Verpa conica* påträffades vid samma lokal. I bokskogen, som uppvisade sin fagreste vårskrud, antecknades bl.a. *Viola mirabilis*, *Paris quadrifolia*, *Adoxa Moschatellina* och *Matteuccia Struthiopteris*. I Kulleberga bokskog beundrades *Lunaria rediviva*.

Den 16 september. — Höstexkursionen startade från Högestad station med promenad till Baldringe. Under vägen demonstrerade färdledaren, amanuens STIG WALDHEIM, de olika huvudtyperna av bokskogar i Skåne, ängsbokskogen med ett stort antal näringsfordrande arter, såsom *Mercurialis perennis*, *Festuca gigantea*, *Agropyron caninum* och *Lamium Galeobdolon* m.fl. och hedbokskogen med *Deschampsia flexuosa*.

På en stenvägg vid Baldringe gård sågs *Homalothecium sericeum* och *Bryum capillaceum*. Vidare påträffades vid gården *Chaerophyllum temulum* och *Chenopodium Bonus-Henricus*.

Den medhavda matsäcken förtärdes i godägare BIRGERS vackra trädgård. Efter den välförtjänta vilan fortsatte sällskapet till exkursionens huvudmål, extremrikkärren vid Baldringe. De ha karaktären av källmyrar och innehålla alltså syrerikt, rinnande vatten. *Schoenus ferrugineus* och hybriden med *nigricans* äro flerstädes dominerande. De av *Juncus subnodulosus* karakteristiska områdena höra till de största i sitt slag i Skåne. Av mossor demonstrerades *Campylium stellatum*, *Cratoneurum glaucum* v. *falcatum*, *Drepanocladus intermedius* och *Ctenidium molluscum*. F.ö. noterades hybriden *Hypericum maculatum* × *tetrapterum*, *Carex lepidocarpa*, *Epipactis palustris*, *Carex flacca*, *Agrostis gigantea* och *Carex panicea*. Av de något torrare kalkfuktängarnas arter intresserade särskilt *Euphrasia Rostkoviana*, *Gentianella uliginosa* och *Selinum carvifolia*. Exkursionen avslutades med ett besök vid tuffbildningarna i Benestad.

Den 28 september. — Höll professor HANS BURTRÖM föredrag om »Tillväxthormoner och längdtillväxt hos rötter».

Föredragshållaren visade med hjälp av kurvor de olika formerna av tillväxt, celledelning och cellsträckning, samt cellsträckningens olika moment. Under den första fasen upplöses cellväggen, under den sista fasen uppbygges den igen. Heteroauxin verkar stimulerande på den första och hämmande på den sista fasen. Tillväxthormonets inverkan på en cell är således beroende av cellens utvecklingsstadium.

Därefter demonstrerade amanuens TORSTEN HÅKANSSON *Woodsia glabella* och *Asplenium viridis* samt gav en kort redogörelse för deras utbredning.

Den 9 november. — Förrättades val av styrelse och revisorer för år 1946. Styrelsen fick följande sammansättning: ordförande docent KARL BJÖRLING, v. ordförande docent TYCHO NORLINDH, sekreterare fil. mag. ASTA LUNDH, v. sekreterare amanuens KNUT ERIKSSON, styrelseledamöter utan särskild funktion docent HENNING WEIMARCK, bankkamrer CARL SCHÄFFER samt fil. lic. SVEN ALGÉUS.

Till revisorer för 1945 års förvaltning valdes överste G. BJÖRNSTRÖM och läroverksadjunkt O. PALMGREN. Till suppleanter för dessa valdes docent H. HJELMQUIST och amanuens H. RUFELT.

Meddelade ordf., att föreningen erhållit en donation på 1.000 kronor från doktor G. OLOFSSON, Borgholm och en på 500 kronor från professor S. MURBECK.

Höll professor R. NORDHAGEN ett föredrag, betitlat »Botaniske hemmeligheter i Norges höy fjell».

Bland den norska fjällfloras element kunna först urskiljas ett antal ubikvister, ex. *Cassiope hypnoides* och *Dryas octopetala*. De övriga gruppera sig i huvudsak inom två olika öar, den sydliga i Dovretrakten, den nordliga i Nordnorge.

Saxifraga hirciifolia tillhör en grupp av växter, som i sin nuvarande utbredning lämnar stöd för antagandet av en övervintring vid atlantkusten. Den finns ej i fjällen söder om Jotunheimen, trots att lämpliga växtplatser finnas. Att en invandring från söder inte är aldeles utesluten, kan utbredningen av *Saxifraga aizoon* lämna bevis för. Den uppträder i Norge i två olika former, av vilka den ena påminner om den mellaneuropeiska typen, medan den andra är endemisk. Föredragshållaren redogjorde därefter för sina forskningar inom *Papaver radicum* - gruppen.

Den 7 december. — Fil. stud. A. KYLIN redogjorde för några näringsfysiologiska försök med *Ulva*. Experimenten hade omfattat undersökningar av kvävekällorna hos *Ulva* samt vissa katjoners inflytande på algen ifråga. Stimulation av tillväxten hade erhållits vid tillsats av Mn, Fe, Zn och Co.

Därefter höll docent H. WEIMARCK föredrag om sina experimentella undersökningar över *Aethusa cynapium*. Fyra ärftligt skilda typer kunde urskiljas: en 2-årig typ, som första året blott bildade en rosett, och tre 1-åriga. Av de senare är en ras lågväxt, även om den odlas på fritt fält med låg konkurrens. De två övriga äro under samma betingelser högväxta.

Genom parallellkulturer av syskonplantor på öppet fält och i råg hade framkommit en tydlig skillnad i rasernas sätt att reagera för konkurrens och beskuggning.

Litteratur.

HOAGLAND, D. R.: Lectures on the inorganic nutrients of plants. — Waltham, Mass. 1944. — 177 sid.

Förf. har i bokform framlagt en serie »Prather föreläsningar» hållna vid Harvard universitetet över växternas försörjning med mineralämnena. Boken är icke och avser icke att vara en monografi utan får närmast fattas som en översikt över vad som utträttats på området vid Division of Plant Nutrition i Berkeley, och som sådan ger den också en respektingivande bild av denna institutions produktion. Omfånget framgår bäst av kapitelrubrikerna: Översikt över växtnäringsproblemen, Spårelement och tillväxt, Upptagning och ackumulering av salter, Transport och fördelning av oorganiska ämnen i växten, Konstgjorda medier vid studier av växtnäringen, Biokemiska problem i samband med saltupptagningen, Synpunkter på kaliumförsörjningen och sambandet mark-växt-atmosfär. — Arbetet har sitt huvudsakliga värde för fackmannen som vill tränga in i den HOAGLANDska skolans åsikter och intressen men får för övrigt läsas med förbehållet, att problemen ganska ensidigt ses ur denna skolas synvinkel.

HANS BURSTRÖM.

RABINOWITCH, EUGENE I.: Photosynthesis and related processes. Vol. I. — Intersc. publ. Inc. New York 1945, XIV+599 sid.

Förf. till denna bok är antagligen inte växtfysiolog men har kommit i beröring med kolsyreassimilationen över studiet av fotokemiska reaktioner och har så skrivit en monografi över detta avsnitt av växtfysiologin. Hans uppgift har varit både svår och tacksam, svår därför, att han haft att samordna botaniska, fysiologiska, kemiska och fysikaliska data, tacksam därför att han haft tillgång till de viktiga framsteg på området, som gjorts i USA de senare åren, och som på väsentliga punkter ändrat vår uppfattning om processerna i fråga. Förf. har åstadkommit en bok, som måste betecknas som mästertlig, även om vissa åsikter och slutsatser han kommer till, kanske icke komma att visa sig hållbara. Boken är mycket välskriven och klart disponerad. Hur grundligt förf. satt sig in även i de klassiska sidorna av ämnet, framgår av den utmärkta historik från STEPHEN HALES till ROBERT MAYER, som inleder boken.

Fotosyntes har tagits i vidast möjliga betydelse och innesluter numer åtskilligt utöver de gröna växternas kolsyreassimilation, »related processes» omfattar logiskt riktigt kemiosyntes, kväveassimilation, bakteriell anaerobios

och delvis andning, varför verket täcker mer än titeln direkt anger. Tre författarnamn citeras flitigt, VAN NIEL, GAFFRON och RUBEN, och den bild förf. ger av sitt ämne grundar sig väsentligen på VAN NIELS utredning av den bakteriella kemosyntesen, GAFFRONS motsvarande undersökningar över alger och RUBENS arbeten med radioaktivt kol. I ett referat är det omöjligt att gå in på detaljer i denna innehållsrika bok, vilka avsnitt man fäster sig vid, beror helt på läsarens inriktning. Ref. vill framhålla dem, som behandla de bakteriella omsättningarna och uppklarandet av de kemiska detaljerna i fotosyntesen i kloroplasterna. Förf. ansluter sig på goda grunder till uppfattningen, att den enda fotokemiska reaktionen är spjälkning av vatten, medan både kolsyrans reduktion och syrgasbildningen äro mörkerreaktioner. Det är möjligt att förf. skjuter över målet något i försöken att sammanfatta de redoxprocesser som behandlas under formlerna av enhetliga väte transporter med olika vätedonatorer och acceptorer, men det är otvivelaktigt, att framställningen är åskådlig och på ett slående sätt samordnar besläktade fysiologiska processer. Ref. noterar särskilt att förf. postulerar förekomsten av en klorofyllsensibiliserad fotokemisk reduktion av nitrat. Resultaten bygga som nämnt i viss mån på arbeten med labila radioaktiva isotoper, i några fall förhåller sig förf. dock skeptisk mot resultaten, vilket är lika ovanligt som antagligen berättigat.

Volymens 20 kap. äro uppdelade i två avsnitt, kemin hos fotosyntesen och besläktade processer, samt strukturen av den fotosyntetiska apparaten. I det senare redogörs ingående för plastidfärgämnenas kemi och funktion; klorofyllets roll uteslutande som sensibilator får anses fastslagen, och åtminstone den primära bindningen av kolsyran kan tänkas ej ens äga rum i plastiderna. I en utlovad vol. II skall processernas fysik behandlas.

Boken är ett verk av bestående värde och en ymnig källa att ösa vetande ur, om den i alla fall inom några år måste revideras, så är det inte förf.:s fel utan forskningens, då denna utvecklas alltför snabbt med de tekniska resurser de ledande institutionerna ha till sitt förfogande.

HANS BURSTRÖM.

MEITÈS, MARC: Action de l'eau et du benzène sur la structure de la cellule végétale (contribution a l'étude physiologique et chimique de la cellule). Thèse Doct. Sciences, Montpellier, 1944. — XI+190 sid., 24 pl.

Författaren har undersökt de cytologiska förändringar, som inträffa i växtceller (rotspetsmaterial av *Lupinus albus* och *Allium sativum*), när de behandlas med vattenlösningar av bensol. Dessa studier ha kompletterats med iakttagelser av verkan av vatten enbart (på rötter, som förut vuxit i fuktig luft). Förutom studier på fixerade och färgade celler har han även gjort iakttagelser på levande material (*Spirogyra*, *Elodea*, lökfjällsepidermis av *Allium*). Vidare har han gjort en del iakttagelser beträffande rötternas morfologiska utveckling efter bensolbehandlingen.

Han har funnit, att bensol framkallar c-mitos (stathmokines) i lämpliga koncentrationer (vilket han även publicerat tidigare i ett preliminärt meddelande, 1942). Detta har han kunnat påvisa tack vare sin metod att prova

ämnet i en serie olika koncentrationer i vattenlösning. Man kan på så sätt finna ett koncentrationsområde där bensolen framkallar c-mitos utan att dess allmänna giftverkningar inverkar störande. (Hans iakttagelse har senare bekräftats av en annan fransk forskare, GAVAUDAN, samt utan kännedom om deras resultat av undertecknad i samarbete med LEVAN.)

I lägre koncentrationer framkallar bensol ett sönderfall av kondriosomerna i korn, denna förändring kan rötterna överleva. Kondriosomerna återtaga sitt vanliga utseende, när rötterna åter komma i sin normala miljö. I starkare koncentrationer, som döda rötterna, erhålles en sammanklumpning av kondriosomerna till droppar. Lägre koncentrationer ge en reversibel vakuolisering av plasman och starkare (dödande) koncentrationer ge en plasmolysliknande skrumpning. Vidare erhålles i starkare koncentrationer ett frigörande av en del av cellens lipoider (lipofaneros). Verkningarna av bensol liknar i dessa hänseenden dem, som erhållas med andra narkotiska lösningsmedel.

Behandlingen av rötterna med bensol förkortar den behandlingstid med kaliumbikromat, som är nödvändig för erhållande av en optimal färgning av kondriosomerna. Det visar sig, att man får en sådan förändring, antingen man behandlar de levande rötterna med bensollösning och sedan fixerar dem med formalin, eller om man fixerar dem med formalin först och sedan behandlar dem med bensollösning. Författaren tolkar denna förändring som en ökning av cellens permeabilitet för bikromat. Om denna tolkning är riktig, vågar jag ej uttala mig om, i varje fall är det intressant att de döda rötterna vid bensolbehandling reagera på samma sätt som de levande.

Med ledning av resultaten från sina bensolbehandlingar av formalinfixerade celler föreslår han en modifiering av REGAUDS teknik att göra preparat för studium av kondriosomerna.

Hos levande celler av *Elodea* har författaren påvisat en reversibel permeabilitetsökning genom bensolbehandling. Permeabiliteten för NaOH studerades efter vitalfärgning med indikatorfärgämne.

Det subterminala partiet av roten (sträckningszonen) visar en tydligt svagare motståndskraft mot bensolbehandling än andra partier. Det partiet dödas lättare.

Bensolen påverkar rotens morfologiska utveckling (hos *Lupinus*) i två hänseenden. Man får nämligen en hämning av huvudrotens tillväxt kombinerad med en stimulering av bildningen av sidorötter. Man skulle kunna föreslå att huvudrotens meristem på något sätt förhindrade sidorötterna att växa ut, och att deras utväxande efter bensolbehandlingen helt enkelt berodde på att det apikala meristemet hämmats. Författaren kan emellertid visa att ett sådant antagande ej innehåller hela sanningen. Bensolbehandlingen kan nämligen förstärka effekten av ett avskärande av rotspetsen, vilket visar att stimulationseffekten även måste orsakas av en annan faktor förutom eliminering av det apikala meristemet. Författaren föreslår att behandlingen av roten med bensol utlöser bildning av sårhormoner.

De experimentella iakttagelserna diskuteras utförligt i ljuset av en mängd litteratur (litteraturförteckningen omfattar 277 nr). Särskilt ingående är diskussionen rörande additionsföreningar mellan lipoider och äggviteämnen

och deras sönderfall vid olika behandlingar, förhållanden som säkerligen äro av stor betydelse vid bedömandet av bensoleffekterna. Vidare diskuteras i korthet frågan, hur kärnsolen kan upplösas vid bensolbehandling. Han kommer även in på frågan om parallelliteten mellan c-mitoseffekt (stathmokines) och narkoseffekt, ett område där GAUDAUDAN utvecklat föreställningar likartade med dem, som framförts av LEVAN och undertecknad.

G. ÖSTERGREN.

NANNFELDT, JOHN AXEL och DU RIETZ, G. EINAR: Vilda växter i Norden. Mossor, lavar, svampar, alger. — Natur och Kultur, Stockholm.

Då TORSTEN LAGERBERGS »Vilda växter i Norden» I—III 1939 avslutats, förebådades en fjärde del, som skulle behandla de lägre kryptogamerna. Något standardverk över den nordiska kryptogamfloran har ej tidigare utgivits, varför detta arbete motsetts med stort intresse. Mossorna, lavarna och algerna ha behandlats av DU RIETZ, svamparna av NANNFELDT. Alla grupperna ha blivit djupgående framställda; till mycket stor del får bearbetningen betecknas som ett vetenskapligt originalarbete. Det är givet, att blott en ringa del av det stora artantalet kunnat komma med vid behandlingen, ehuru för varje släkte åtskilliga uppsynningar meddelas även om andra arter än dem, som utvalts för avbildning.

Mossorna ha fått ett förhållandevis ringa utrymme. De flesta arterna inom denna stora grupp lämna sig ej heller för färgfotografering. Jämförelsevis utförligt ha vitmossorna behandlats. De äro också särskilt betydelsefulla i våra myrar ur sociologisk, allmänt växtgeografisk och ekologisk synpunkt.

Lavarna ha fått större andel i boken. De tillhöra en av författarens många specialiteter, och åtskilliga av dessa arter äro särskilt tacksamma att reproducera i färg. Talrika bilder i svart och vitt illustrera deras anatomi och fortplantning (förökning), och åtskilliga utbredningskartor ha här för första gången blivit framlagda inför offentligheten. Reproduktionstekniken, autotypi, är dock ej tilltalande med den grå bakgrund och därmed ringa kontrast, som blir en följd. Kartbilderna blir enligt rec:s mening ej blott dyster utan även svår att läsa (se t.ex. kartan över *Lecidea decipiens* s. 107 och över *Gyrophora hyperborea* s. 134). Beträffande karteringstekniken måste rec. också anmärka på den visserligen allmänt använda men tråkiga och inexakta metoden med sammanflytande prickar, vilka, om fyndorterna ligga tätt, bilda en enda, oregelbunden kaka av svart (se karta över *Parmelia acetabulum* s. 153; jfr »Skånefloras» kartor i senare årg. av Botaniska Notiser). Många av svart-vit-bilderna på planschpapper äro raffinerat vackra men kunna ju i allmänhet ej mäta sig med färgplanschererna.

Svamparna äro brett och utförligt behandlade. Många för svensk litteratur nya och intressanta uppgifter av systematisk och biologisk natur meddelas här, men så är förf. en av landets förnämsta experter på denna grupp. Matsvamparna ha naturligt nog fått sin välförtjänta del, men de ha ej tillåtits dominera utrymmet. Arturvalet har, så vitt rec. kan bedöma, gjorts på ett föredömligt sätt, så att de viktigare grupperna och släkena blivit representerade. En avgjord förtjänst är också, i ett arbete av denna art, att de svenska namnen tagits med.

Algerna s skiftande grupper med deras morfologiskt intressanta typer äro också grundligt framställda. Stor vikt har med all rätt lagts på den ur systematisk synpunkt viktiga generationsväxlingen, som är klart framställd i ord och bild.

Med avsikt har jag lämnat omnämmandet av färgplanscherne till sist. De äro genomgående bäst lyckade över lavar och svampar. Dessa grupper med sina ofta klara färger i brunt, rött, grönt o.s.v. äro också väl ägnade att reproducera i färg. De flesta äro i själva verket mästerstycken. Särskilt vill jag också framhålla som en förtjänst, att fotograferingen skett i en naturlig miljö. Även mossorna ha i de flesta fall blivit lyckade, men hos vissa arter ha nog detaljerna varit alltför fina för att kunna återgivas, t.ex. hos *Ptilidium* och *Radula*. Algerna slutligen äro svåra att fotografera. De måste tagas i akvarium, varvid belysningsförhållandena äro vanskliga att behärska. Många av dem äro dock av hög kvalitet, andra däremot ge ej så mycket upplysning om växtens naturliga utseende.

Den fjärde delen av »Vilda växter i Norden» är ett synnerligen värdefullt tillskott till den svenska botaniska litteraturen. De båda författarna ha med välvilliga händer öst ur sina rika kunskapskällor och presenterat materialet i en form, som torde vara begriplig för alla. Förlaget har ej skytt några medel för att ge verket en värdig utstyrsel i tryck, bilder och band. Det är önskvärt, att arbetet blir representerat i privatmännens bokbestånd och i läroanstalternas bibliotek. Ty verkligen god kryptogamlitteratur, tillgänglig för alla naturintresserade, ha vi hittills saknat.

H. WEIMARCK.

NEANDER, GUSTAF, m.fl.: Finnerödja. En socken i Västergötland. — Kooperativa förbundets förlag. Stockholm 1944. Pris 50 kronor.

Boken om Finnerödja är i många avseenden en märklig bok. GUSTAF NEANDER själv, som ej fick uppleva arbetets utgivande, skriver »Hemlängtan är orsaken till att denna bok blivit skriven». Det är kärleken till hembygden, som varit drivkraften och som lyser fram i var och en av bokens avdelningar.

Det var NEANDERS avsikt att själv skriva sin hembygdsbok, men han hann före sin död 1941 blott fullborda 3 kapitel av de avsedda 20. Stora samlingar av naturalier, kulturhistoriska föremål och arkivalier hade han hopbragt, och dessa ha utgjort en viktig grundval för andra forskare att bygga på. Förutom läkare var NEANDER framförallt botanist. Hans herbarium över hemsocknen torde vara mycket fullständigt.

Ehuru de olika kapitlen tillsammans bilda en helhet, är det här ej möjligt att behandla dem alla. Blott de mera naturvetenskapliga skola utväljas. K. E. SAHLSTRÖM har skrivit om geologien i avsnittet »Hur marken danats». Den fasta berggrunden utgöres av urberg, näml. röd eller grå gnejs och spridda massiv av granit. Därjämte förekommer sandsten inom smärre områden. De lösa jordlagren äro till största delen bildade av urbergsmaterial, till stor del grov morän, men på lägre, flackare områden utbreda sig leror, en gång avsatta på havsbotten. Mossar och kärr med mäktiga torvlager spela en stor roll. Av socknens omkr. 194 kvkm intagas $\frac{4}{5}$ av skog, till allra största delen barrblandskog.

Floran har behandlats av GUSTAF NEANDER själv i inledningskapitlet »Om hemlängtan, barndomsminnen, hembygds kärlek» men framförallt av RUTGER SERNANDER i »Finnerödjas ädellövskogar fordom och nu» och C. ÅKE ROSLUND i »GUSTAF NEANDER och Finnerödjas flora». SERNANDER framhåller själv, att hans uppsats »i viss mån är en utvidgning av Gustaf Neanders — 'Flora Fennorodiae'». Ett särskilt avsnitt ägnas åt NEANDERS löväng på Lilla Ramsnäs, vilken skötts efter SERNANDERS anvisningar: obetydlig betning genom nötkreatur, slätter på lämplig tidpunkt, ingen hamling, hopsamling och bränning av grövre vedförna. Mera anmärkningsvärda arter här äro *Geranium bohemicum*, *Lathyrus silvestris*, *Botrychium matricarifolium* och *Salix depressa*. I Brinkängen märkas *Epipogium*, *Neottia*, *Lathraea*, *Campanula cervicaria* och *Sorbus aucuparia* *suecica*. SERNANDER ägnar speciell uppmärksamhet åt ädellövkogens betydelse för bebyggelse och odling, åt lid- och strandbebyggelsen.

ROSLUNDS kapitel skildrar främst NEANDERS insats vid utforskandet av socknens växtbestånd. NEANDERS »Finnerödja sockens kärlväxtflora» (Sv. Bot. Tidskr. 1939) upptager 625 arter, utom *Hieracium* och *Taraxacum*. Bland de märkligare arterna inom socknen — förutom dem som nämnts av SERNANDER — observeras *Cardamine amara* f. *aequiloba* och *Imperatoria Ostruthium*, den senare dock från början inplanterad som medicinalväxt. Förutom de nu nämnda uppsatserna innehåller »Finnerödja» följande kapitel: GUSTAF NEANDER, »Om Tiveden i allmänhet och Stora Tiveden i synnerhet» och »Constantia Erikdotter. En konungadotter i Tivedsbygden», SAHLSTRÖM, »Fornfynd och fornlämningar», GUSTAF och HERMAN NEANDER, »Kyrkor och prästerskap», HERMAN NEANDER, »Skolor och lärare» och »Finnerödjabor i förskingringen», TURE J. ARNE m.fl., »Ur Finnerödja folkets tidigare historia» och »Brännvinet i Finnerödja», GUNNAR W. ANDERSSON m.fl., »Jakten» och »Fisket», ERIC VON ROSEN, »Stora Ykullen, Gustaf Neanders fädernegård», KARL BÄCKGREN, »Gammal folketro i Tiveden» och »Sjön Unden och dess strandbygd», SIXTEN RÖNNOW, »Skagersholm herrgård och järnbruk», GUSTAF MANFRED FREDBERG, »Glimtar från det kommunala livet 1840—1940» och »Finnerödja i nutiden», GÖSTA KLINTE m.fl., »Hälsovård och sjukdomar», LINNÉA ANDEMAR, »Paradis-torg på 1880- och 1890-talen» samt slutligen GEORG LÖFGREN, »En marknadsresa till Finnerödja 1893».

»Finnerödja. En socken i Västergötland» torde sakna motsvarighet som monografi över en svensk landsortssocken. De många framstående författarna ha gått till verket med kärlek och sakkunskap. Förlaget har dessutom givit boken en synnerligen värdig utstyrelse: de talrika förnäma bilderna göra boken ytterligare njutbar och värdefull.

H. WEIMARCK.