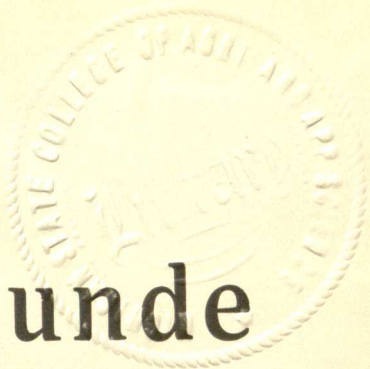


Archiv für Protistenkunde



Begründet von

Fritz Schaudinn

Herausgegeben von

Max Hartmann und **Adolf Pascher**

Berlin

Prag

60. Band

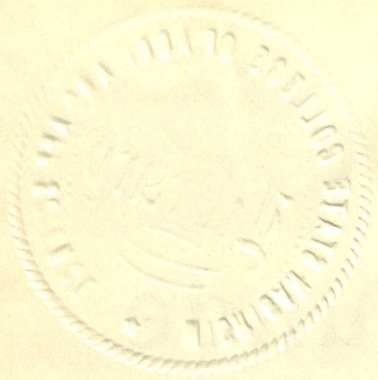
Mit 169 Abbildungen im Text und 15 Tafeln



Jena

Verlag von Gustav Fischer

1927/1928



bd. 60

Alle Rechte vorbehalten.

Printed in Germany.

Inhaltsübersicht.

Erstes Heft.

(Ausgegeben am 2. Dezember 1927.)

Abhandlungen:	Seite
HARTMAN, ERNEST: Three Species of Bird Malaria, <i>Plasmodium praecox</i> , <i>P. cathemerium</i> n. sp., and <i>P. inconstans</i> n. sp. (With Plates 1—2)	1
CHOLNOKY, B. V.: Über die Auxosporenbildung von <i>Rhoicosphenia curvata</i> (Kg.) GRUN. (Mit Tafel 3)	8
KAHL, ALFRED: Neue und ergänzende Beobachtungen holotricher Ciliaten. I. (Mit 21 Textfiguren)	34
WETZEL, A.: Über zwei noch unbekannte holotriche Ciliaten, <i>Frontoniella complanata</i> nov. gen., nov. spec. und <i>Spathidium caudatum</i> n. sp. (Mit 7 Textfiguren)	130
DISSMANN, ERWIN: Vergleichende Studien zur Biologie und Systematik zweier <i>Pythium</i> -Arten. (Mit 36 Textfiguren)	142

Kleinere Mitteilungen:

AUNAP, E.: Eine Methode, Infusorien auf dem Objektträger zu fixieren und zu färben. (Mit 2 Textfiguren)	193
---	-----

Zweites Heft.

(Ausgegeben am 20. Januar 1928.)

Abhandlungen:

MAST, S. O.: Structure and Function of the Eye-spot in Unicellular and Colonial Organisms. (With 4 Textfigures and Plate 4)	197
SCHUSSNIG, BRUNO u. ROSA JAHODA: Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Protophyten. III. Zur Kenntnis der Entwicklungsgeschichte von <i>Brongniartella byssoides</i> (G. et W.) SCHM. (Mit 25 Textfiguren und Tafel 5—6)	221
ALEXEIEFF, A.: Sur la question des mitochondries et de l'appareil de GOLGI chez les Protistes. (Avec 2 figures dans le texte et planches 7—8)	268
TSCHUDOVSKAJA, INNA: Über einige Parasiten aus dem Darmkanal der <i>Sciara</i> -Larven. (Mit 11 Textfiguren und Tafel 9)	287
MAINX, FELIX: Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Eugleninen. I. Teil. Morphologische Beobachtungen, Methoden und Erfolge der Reinkultur. (Mit 8 Textfiguren und Tafel 10)	305
—: Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Eugleninen. II. Teil. Untersuchungen über die Ernährungs- und Reizphysiologie	355
CONRAD, W.: Le genre <i>Microglena</i> C. G. EHRENBERG (1838.) (Avec 13 figures dans le texte)	415

Kleinere Mitteilungen:	Seite
GEITLER, LOTHAR: Neue Blaualgen aus Lunz. (Neue oder wenig bekannte Microorganismen aus der Umgebung von Lunz.) Nr. I.) (Mit 7 Textfiguren)	440

Drittes Heft.

(Ausgegeben am 14. Februar 1928.)

Abhandlungen:

YAKIMOFF, W. L.: Zur Frage über die Arten der Babesiellen in Rußland . .	449
KRUMBEGEL, INGO: Notiz über <i>Shepherdella encommatophila</i> , ein neues Foraminifer der Kieler Bucht. (Mit 4 Textfiguren)	455
ROSKIN, G. u. S. SCHISCHLIAIEWA: Die Kernteilung bei Trypanosomen. (Mit 6 Textfiguren und Tafel 11)	460
ROSKIN, GR. u. K. ROMANOWA: Die Kernteilung bei <i>Leishmania tropica</i> . (Mit 4 Textfiguren und Tafel 12)	482
PÉTERFI, T. u. SCH. MOSCHKOWSKI: Mikrurgische Versuche an Leishmanien. (Mit 4 Textfiguren)	492
STEUER, ADOLF: Über <i>Ellobiopsis Chattoni</i> CAULLERY 1910, einen ectoparasitischen Flagellaten mariner Copepoden. (Mit 10 Textfiguren) . .	501
GÜNTHER, FRANZ: Über den Bau und die Lebensweise der Euglenen, besonders der Arten <i>E. terricola</i> , <i>geniculata</i> , <i>proxima</i> , <i>sanguinea</i> und <i>lucens</i> nov. spec. (Mit 5 Textfiguren und Tafel 13—15)	511
Alphabetisches Namenverzeichnis der in den Bänden 51—60 beschriebenen neuen Arten, Gattungen und Familien	591

Nachdruck verboten.
Übersetzungsrecht vorbehalten.

Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Eugleninen.

I. Teil.

Morphologische Beobachtungen, Methoden und Erfolge der Reinkultur.

Von

Felix Mainx (Prag).

(Hierzu 8 Textfiguren und Tafel 10.)

I. Einleitung	305
II. Morphologie	306
III. Kulturmethoden	321
IV. Die kultivierten Arten	331
V. Bemerkungen zum System der Eugleninen	349

(Zusammenfassung und Literaturverzeichnis folgen am Schluß des II. Teiles.)

I. Einleitung.

Die Eugleninen zogen durch ihre eigenartige Organisation von jeher das Interesse der Botaniker und Zoologen auf sich und veranlaßten zahlreiche Autoren zu Spezialuntersuchungen und gelegentlichen Beobachtungen. Ihre Stellung im System der Protisten ist ziemlich isoliert. ALEXIEFF (1912) bringt sie in verwandtschaftliche Beziehungen zu den Sporozoen und tatsächlich erinnern sie durch den komplizierten Bau ihrer Organellen und die Art ihrer Kernteilung an Protozoen. Ihr Anschluß an andere Flagellatengruppen mit Algencharakter ist nicht leicht herzustellen und wir

müssen wohl annehmen, daß ihre einfacher organisierten Vorfahren ausgestorben sind. Die Euglenaceen und Astasiaceen stellen sicher eine einheitliche Gruppe dar, deren Verwandtschaft mit den Peranemaceen jedoch schon problematisch erscheint. Wahrscheinlich sind die Eugleninen in ihrer heutigen Abgrenzung gar nicht monophyletischen Ursprungs. Unsere Kenntnis der Gruppe beruht vor allem auf den grundlegenden Untersuchungen von KLEBS (1883, 1893), der die Beobachtungen älterer Autoren (EHRENBERG, STEIN) kritisch verarbeitete und durch eine große Anzahl sorgfältiger Beobachtungen und Versuche die Morphologie und die wesentlichen physiologischen Eigenschaften der Euglenenzelle aufklärte. Weitere Monographien verdanken wir DANGEARD (1901), der vor allem eine große Anzahl neuer Arten beschrieb und DREZEPOLSKI (1925), der in jüngster Zeit die Ergebnisse der Euglenenforschung darstellte. LEMMERMANN hat in der „Kryptogamenflora der Mark Brandenburg“ und in PASCHER'S „Süßwasserflora“ die bisher bekannten Formen zusammengefaßt.

Als man in neuerer Zeit die große Bedeutung der Reinkultur für die Aufklärung der Algenphysiologie und den hohen Wert algenphysiologischer Untersuchungen für die Pflanzenphysiologie überhaupt erkannte, hat man auch Euglenen wiederholt als Objekte herangezogen. Die folgenden Untersuchungen sind ein Versuch, die Physiologie einer größeren Anzahl von Eugleninen vergleichend zu bearbeiten. Dieser Plan schien um so mehr zu versprechen, als es schon unter den Eugleninen im engeren Sinne selbst Formen gibt, die durch den Verlust des Chlorophylls zu Saprophyten geworden sind, unter den grünen Arten jedoch alle Abstufungen der ökologischen Typen von den Bewohnern reiner Gewässer bis zu polysaprophyten Ubiquisten vertreten sind. Im Vordergrund des Interesses standen dabei ernährungs- und reizphysiologische Fragen; morphologische Beobachtungen wurden nur gelegentlich gemacht. Die Methoden der Reinkultur, durch die man stets beliebig viel gesundes Zellmaterial bei der Hand haben kann, sind auch als Hilfsmittel für morphologische und cytologische Untersuchungen sehr zu empfehlen¹⁾.

II. Morphologie.

Die folgenden Zeilen sollen keine zusammenfassende Darstellung der morphologischen Verhältnisse der Euglenenzelle geben, da dies angesichts der älteren größtenteils zuverlässigen Monographien

¹⁾ Der Verfasser ist gern bereit, Reinkulturen für Forschungszwecke zur Verfügung zu stellen.

überflüssig erscheint, sondern nur einige Beobachtungen mitteilen, die eine Ergänzung des bisher bekannten bringen.

Die Pellicula („Membran“ der älteren Autoren) stellt eine differenzierte Schicht des oberflächlichen Protoplasmas dar und ist vom Körper nur durch gewaltsame Mittel loszutrennen, die den organischen Zusammenhang vollkommen zerstören. Sie kleidet auch die Wand des schmalen Trichters („Schlundkanal“) aus, der in das Reservoir (die „Hauptvakuole“ der älteren Autoren) führt, die Wand des Reservoirs jedoch ist nackt. Über den Bau und die Eigenschaften der Pellicula hat HAMBURGER (1911) eingehende Untersuchungen angestellt. Sie beschreibt sehr widerstandsfähige und substantiell von der übrigen Pelliculamasse verschiedene Streifen, die spiralig verlaufen und bei den verschiedenen Euglenenarten verschieden stark ausgebildet sind, bei den metabolisch beweglichen weniger, bei den starren Formen stärker. BRETSCHNEIDER (1925) beschreibt ähnliche Spiralstreifen bei *Phacus*-Arten. Die Autoren fassen diese Strukturen als elastische Elemente auf, die den durch die Metabolie hervorgerufenen Formveränderungen entgegenwirken. Die Mazerierung dieser elastischen Streifen gelang mir leicht durch Anwendung von LÖFFLER'S Geißelbeize, wenn die durch Osmiumsäuredämpfe fixierten und am Deckglas angetrockneten Zellen in der Beize länger und stärker als gewöhnlich erwärmt und nachher mit Anilinfuchsin gefärbt werden (Taf. 10 Fig. 15). Auf der Oberfläche der Pellicula kann man bei den meisten Eugleninen Reihen von kleinen Höckern feststellen, die ebenfalls spiralig verlaufen. Sie sind es hauptsächlich, die die Spiralstreifung an der lebenden Zelle so deutlich sichtbar machen. Sie stehen offenbar in Zusammenhang mit der Ausscheidung von Schleim (MAINX 1926), der stets in einzelnen Fäden hervorgestoßen wird, wahrscheinlich aus kleinen zapfenförmigen Organellen, die unter den Höckern in der Pellicula liegen (KLEBS 1888, GICKLHORN 1921). Durch die Verquellung und das Zusammenfließen der Schleimfäden kommen zunächst netzförmige, dann homogene Schleimhüllen zustande, deren Funktion nach BRESSLAU (1924) vor allem in der Adsorption giftiger Stoffe bestehen soll. Bei *Colacium* dient der besonders am Vorderende hervorgestoßene Schleim zur Festheftung der Zellen. Bei der Ausscheidung fester Membranen erfolgt die Sekretion nicht ruckweise, sondern allmählich, doch scheinbar gleichfalls aus den höckerförmigen Organellen. Bezeichnend ist es, daß die Arten, die nur selten oder niemals Hüllen ausscheiden, wie *Euglena deses*, *E. intermedia* und besonders *E. Klebsii*, die spiraligen Höckerreihen nur in sehr schwacher, kaum sichtbarer

Ausbildung zeigen, während sie bei den stark sezernierenden Arten sehr deutlich sind. Ganz fehlt die Spiralstreifung nach meinen Befunden bei keiner grünen Euglene, nur einige Astasien scheinen eine ganz glatte Pellicula zu haben.

Für das Protoplasma der Euglenen ist von einigen Autoren (REICHENOW 1909, POPOFF-PASPALEFF 1924) ein „wabiger“ Bau beschrieben, der jedoch nur von den in Dauerpräparaten kaum sichtbaren Paramylonkörnern vorgetäuscht wird, deren Masse den Eindruck eines Hohlraumes macht. In Wirklichkeit ist der Bau des Protoplasmas dicht und unterscheidet sich nicht von dem anderer Protisten. Hier und da kommen wohl große Vakuolen vor, doch nur in degenerierten Zellen. Die pulsierenden Vakuolen entstehen in Mehrzahl seitlich neben dem Reservoir, vergrößern sich und fließen zu einer großen Vakuole zusammen, deren Wand sich gegen das Reservoir zu immer mehr verdünnt, um endlich zu platzen, so daß der Inhalt in das Reservoir entleert wird. Bevor dies noch geschehen ist, beginnt schon wieder die Neubildung der kleinen Vakuolen. Besonders schön läßt sich die Tätigkeit der pulsierenden Vakuolen an den großen Formen, wie *Euglena sanguinea* und *E. oxyuris* verfolgen. KLEBS (1883) hat den Einfluß äußerer Faktoren auf sie untersucht. Wenn man eine Euglene durch den Druck des Deckglases zum Platzen bringt, so erfolgt dies nach meinen Beobachtungen stets an der Innenwand des Reservoirs, da dort die nackte Plasmahaut am wenigsten Widerstand entgegensetzt, und zwar kommt es dann zu einer abnorm starken Vergrößerung der pulsierenden Vakuole. Mit ihrer Entleerung wird auch das Plasma mit seinen Inhaltskörpern in das Reservoir und weiter durch den Schlundkanal in das Wasser ausgestoßen.

Die Chromatophoren sind oft durch den Paramylonreichtum der Zellen in ihren Umrisen nur schlecht zu erkennen und daher von vielen Autoren leider nur ungenau oder sogar falsch beschrieben, obwohl die genaue Feststellung ihrer Form für die Definierung der Arten von größter Wichtigkeit ist. Sie stellen ziemlich labile Organellen vor, die ihre Form unter dem Einfluß äußerer Bedingungen oft stark ändern, weswegen die Beobachtung ganz gesunden Materials und Färbungen die Voraussetzung für eine richtige Beschreibung sind. SCHMITZ (1884) hat ausführlich ihren Bau bei mehreren Arten dargestellt. Irrtümlich glaubt er, daß *Euglena viridis* einen, *E. geniculata* zwei sternförmige Chromatophoren besitzt, während schon KLEBS (1883) und spätere Autoren (VAN GOOR 1925) richtig erkannt haben, daß beide Arten Chromatophoren von der

Form kürzerer oder längerer Bänder besitzen, die bei *E. viridis* in Form eines Sternes (Taf. 10 Fig. 5 u. 6), bei *E. geniculata* in zwei Sternen angeordnet sind. SCHMITZ glaubt auch, daß die Paramylonkörner stets in einer Lagebeziehung zu Chromatophoren entstehen und dann erst von diesen abrücken. Dies trifft nicht zu. Die Paramylonkörner werden frei im Plasma angelegt, bei manchen Arten in charakteristischer Lagerung, doch ohne Zusammenhang mit den Chromatophoren. Nur wo Pyrenoide in den Chromatophoren vorhanden sind, besitzen diese zwei unverwachsene Paramylonschalen, die dem Pyrenoid, das entweder mitten im Chromatophor liegt oder auf einem stielartigen Fortsatz aus diesem hervorragt, außen anliegen, ohne von dessen Substanz oder der Substanz der Chromatophoren umfaßt zu werden.

BÜTSCHLI (1906), der das Paramylon morphologisch und physiologisch genau untersucht hat, diskutiert die Möglichkeit, daß durch Ablösung der Paramylonschalen und ihre Ausfüllung mit neugebildeter Substanz freie Paramylonkörner im Plasma zustandekommen können. Ich habe diesen Vorgang wiederholt bei *Euglena gracilis* und *E. anabaena* beobachtet, obwohl auch bei diesen Arten wenigstens ein Teil der Paramylonkörner von Anfang an frei im Plasma angelegt wird. *Euglena deses* und *E. Klebsii* scheinen in Rückbildung begriffene Pyrenoide zu besitzen, da diese nicht immer sichtbar sind und keine Paramylonschalen ablagern. Allerdings kann es sich auch um Differenzierungen der Chromatophoren handeln, die mit den beschalteten Pyrenoiden nichts zu tun haben. Auch bei *E. Ehrenbergii* scheinen nach HAMBURGER (1911) solche rudimentäre Pyrenoide vorhanden zu sein. Dagegen besitzen *Euglena deses*, *E. viridis* und *E. geniculata* Differenzierungen im Plasma, die sich färberisch von ihrer Umgebung abheben lassen, jedoch ohne scharfe Konturen sind, und die man als Paramylonherde bezeichnen kann. Um diese Plasmaverdichtungen lagern sich die Paramylonkörner ab, ohne jedoch in ihrer Gestalt irgendwelche Beziehungen zu dem Paramylonherd erkennen zu lassen. Im Beginn der Paramylonspeicherung ist die Lagebeziehung zu den Paramylonherden besonders deutlich. Bei *E. viridis* liegt der Paramylonherd in der Mitte der sternförmigen Figur, die die Chromatophoren bilden (Taf. 10 Fig. 5), bei *E. geniculata* sind die zwei Paramylonherde ebenfalls in der Mitte der beiden sternförmigen Chromatophorengruppen gelegen, bei *E. deses* findet man die beiden Paramylonherde vor und hinter dem Kern im ersten und letzten Viertel des Körpers ohne Lagebeziehung zu den Chromatophoren (Textfig. 7). SCHMITZ (l. c.) hält fälschlich die Para-

mylonherde von *Euglena viridis* und *E. geniculata* für Pyrenoide der Chromatophoren.

Das Stigma oder der Augenfleck, den alle grünen Eugleninen und viele Astasiaceen besitzen, wird viel mit der Suszeption des Lichtreizes in Zusammenhang gebracht, obwohl er höchstens die Rolle eines Lichtschirmes spielt, selbst jedoch nicht das suszipierende Organ darstellt. WAGER (1900) hält vielmehr die Geißelverdickung, von der später noch die Rede sein soll, und die stets unterhalb oder wenigstens in der Nähe des Stigmas liegt, für reizsuszipierend. Die Befunde FRANCÉ'S (1893), der an dem Augenfleck vieler Eugleninen kristallkörper- und linsenartige Gebilde aus Paramylon gesehen haben will, konnten von den späteren Autoren (WAGER l. c.) nicht bestätigt werden, auch für andere Algen wurden seine Ergebnisse größtenteils widerlegt. Es kommt wohl hier und da vor, daß einzelne Paramylonkörner zufällig in der Nähe des Stigmas liegen, doch diese haben gar keine inneren Beziehungen zu ihm und können bald wieder durch eine Plasmaströmung entfernt werden. Der Augenfleck besteht stets nur aus einer oberflächlich gelagerten schalenförmigen Ansammlung mehr oder weniger dicht gelagerter Fetttropfchen, die durch Hämochrom rot gefärbt sind und in einer dichteren Partie des Protoplasmas eingelagert zu sein scheinen. GRASSÉ (1926) faßt das Stigma als Parabasalapparat der Geißel auf. Dem tritt MANGENOT (1926) mit Recht entgegen und hält das Stigma für ein einem Chromatophor homologes Gebilde. Für diese Deutung lassen sich einige Wahrscheinlichkeitsgründe anführen (ROTHERT 1914). Für *Astasia* konnte nachgewiesen werden, daß der Farbstoff des Stigmas einheitlich ist und nicht wie das sonst bei Euglenen auftretende Hämochrom und die gelben Farbstoffe der Chromatophoren aus zwei verschiedenen Karotinen zusammengesetzt ist (PRINGSHEIM und MAINX 1926). Ob dies auch für das Stigma anderer Algen gilt, ist nicht zu entscheiden.

Die Geißel der Euglenen erscheint im lebenden Zustand ganz homogen und mit glatter Oberfläche, am Ende etwas zugespitzt und verläuft durch den Schlundkanal in das Reservoir, an dessen Grund sie inseriert ist. Durch Färbungen läßt sich meist ein Achsenfaden sichtbar machen, der nach PLENGE (1898) bei *Trachelomonas*, nach BÜTSCHLI auch bei Euglenen exzentrisch liegt. Bei *Euglena viridis* konnte ich einen exzentrischen, bei *E. rubida* einen zentralen Verlauf der Achsenfibrille feststellen. Sie ist mit einer Schicht von flüssigem Plasma umkleidet, das bei Schädigung in Tropfen zusammenfließt, wodurch die tropfige Degeneration abgeworfener oder

geschädigter Geißeln zustande kommt. FISCHER (1894) gibt an, bei *Euglena viridis* durch Beizung und Färbung nach LÖFFLER an der Geißel einen einseitigen Besatz aus zahlreichen langen Cilien sichtbar gemacht zu haben, von denen er glaubt, daß sie durch ihr Schlagen die Funktion der Geißel als Fortbewegungsorgan unterstützen. PLENGE (l. c.) leugnet das Vorhandensein dieser Cilien und führt die von FISCHER gesehenen Strukturen auf Niederschläge zurück, die durch die letzten Bewegungen der absterbenden Geißel zu regelmäßigen Figuren geordnet werden könnten.

Ich habe die Untersuchungen FISCHER's nachgeprüft und kann seine Ergebnisse vollauf bestätigen. Außer bei *Euglena viridis* konnte ich die cilienähnlichen Strukturen auch bei *Phacus pleuronectes* feststellen, wo sie noch viel schöner ausgebildet sind (Taf. 10 Fig. 16 u. 17). Bei *Euglena rubida*, *E. anabaena*, *E. gracilis*, *Menoidium incurvum*, *Chlorogonium elongatum* und *Polytoma wella* ließen sich hingegen keine „Cilien“ nachweisen. Auch bei diesen Arten erwies sich die LÖFFLER'sche Methode als sehr geeignet, um die richtige Länge und Form der Geißel darzustellen. Der Cilienbesatz der Geißel von *E. viridis* und *Phacus* besteht aus langen sehr feinen Fäden und läuft dicht und regelmäßig an der einen Seite der Geißel entlang. Verklebungen zu Büscheln, wie FISCHER sie abbildet, konnte ich nicht sehen. Die Cilien lassen den untersten im Schlundkanal und Reservoir verlaufenden Teil der Geißel frei und umlaufen die Geißelspitze ein wenig. Ist die Geißel im Präparat tordiert oder umgeschlagen, so sieht man sehr schön, wie der Geißelbesatz immer der einen Geißelflanke folgt. FISCHER hat die Euglenen vor der Beizung nicht fixiert, deshalb wohl auch nicht immer klare Bilder bekommen. Setzt man den Euglenen-haltigen Tropfen vor dem Antrocknen für einige Minuten Osmiumsäuredämpfen aus, so erhält man viel schönere Bilder, auch bleiben dann die Euglenenkörper selbst am Deckglas haften, so daß die Insertion der Geißeln zu sehen ist. Versuche, die problematischen Cilien im Leben oder an einfach gefärbten Geißeln zu sehen, schlugen fehl. GICKLHORN (1921) gibt eine Methode der Färbung mit Methylenblau an, besser noch bewährten sich Färbungen der mit Osmiumdämpfen fixierten Geißeln mit einer schwachen Gentionviolettlösung. Auch Beobachtung mit stärksten Vergrößerungen und im Dunkelfeld ergaben keine Anhaltspunkte für das Vorhandensein der Cilien im Leben. Die Annahme, daß es sich um Kunstprodukte handelt, ist jedoch sehr unwahrscheinlich. Daß Fällungen aus der Beize sich stets in so regelmäßigen Strukturen um die Geißel anordnen sollten, auch dann wenn sie tordiert ist,

kann man kaum glauben. Der Einwand PLENGE'S, daß die Anordnung der Niederschläge durch die letzten Bewegungen der an-trocknenden Geißel bewirkt seien, wird durch die Osmiumfixierung hinfällig. Auch daß Koagulationen des Geißelplasmas mit und ohne Fixierung stets so regelmäßig und in langen cilienartigen Gebilden erfolgen sollte, ist kaum wahrscheinlich. Ich glaube doch, daß es sich bei den Cilien um natürliche Gebilde handelt, die nur wegen ihrer großen Feinheit ohne Verstärkung durch die Beize ähnlich wie Bakteriengeißeln nicht sichtbar zu machen sind. Doch scheint es mir unwahrscheinlich, daß sie schlagende Bewegungen ausführen, obwohl man manchmal Lagerungen der Cilien sehen kann, die an die wellenförmigen Bewegungsbilder bei Ciliaten erinnern. Sie dürften vielmehr starr sein und nur als Verbreiterung der Geißel dienen. PETERSEN (1918) hat bei *Synura*, *Uroglena* und *Dinobryon* auf der nach vorn gerichteten Geißel einen ähnlichen Cilienbesatz, jedoch beiderseitig ansitzend, festgestellt, während die Schleppeißel nackt sein soll.



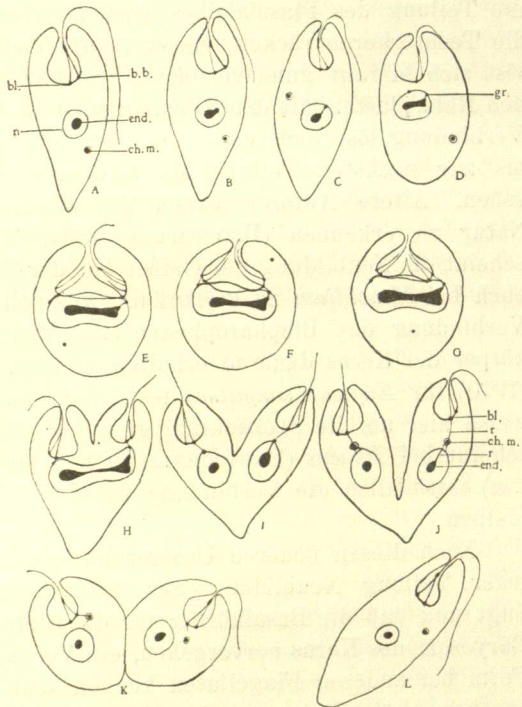
Textfig. 1. Vorderende von *Euglena viridis*. Der Tropfen mit den Euglenen wurde einige Minuten Osmiumsäuredämpfen ausgesetzt, dann vom Rande Gentianaviolett zugesetzt. Die Geißel zeigt einen exzentrischen Achsenfaden und verläuft durch den Schlundkanal in das Reservoir. Vor ihrer Gabelung trägt sie eine deutlich aus zwei verschmolzenen Teilen bestehende Verdickung, am Grunde zwei Basalkörnchen, die hier am oberen Rande des Reservoirs, in anderen Fällen auf dessen Grund liegen.

Der im Reservoir verlaufende Basalteil der Geißel ist nach WAGER (l. c.) und HAMBURGER (l. c.) bei Euglenen, nach GICKLHORN (1921) auch bei *Astasia* gegabelt, bei *Phacus* (BRETSCHNEIDER l. c.) und *Menoidium* (HALL 1923) dagegen einfach. Auch ich konnte bei *Phacus*, *Menoidium* und *Trachelomonas* im Gegensatz zu *Euglena*-Arten und *Astasia* keine Spaltung der Geißelbasis sehen. An der Stelle der Gabelung befindet sich eine Verdickung, die ungefähr unterhalb des Augenflecks liegt, an der Insertionsstelle der beiden Gabeläste im Plasma befinden sich zwei Basalkörner. Bei der Färbung mit Gentianaviolett treten diese Strukturen oft deutlich hervor (Textfig. 1). Das Abwerfen der Geißel erfolgt meist an der Austrittsstelle aus dem Schlundkanal, von wo aus auch die Regeneration stattfindet. Doch kommt es auch vor, daß die abgestoßene Geißel mit einem Körnchen an der Basis versehen ist, das meist für ein Basalkorn gehalten wurde, doch eher nur die Verdickungsstelle vor der Gabelung darstellt. Nur solche Geißeln können sich noch bis fünf Minuten lang im Präparat selbsttätig weiterbewegen,

ein Zeichen dafür, daß die Verdickungsstelle für die Geißeltätigkeit von wesentlicher Bedeutung ist.

Die Herkunft der Basalkörner und die Zusammenhänge der Geißelbildung mit der Kernteilung, über die schon früher öfters Vermutungen aufgestellt wurden, hat in jüngster Zeit die wertvolle Arbeit BAKER's (1926)

restlos aufgeklärt. Er untersuchte „*Euglena agilis* CARTER“ (= *Euglena gracilis* KLEBS), die er in Anhäufungskulturen züchtete. Die schematischen Textfigur 2 a—h veranschaulichen am besten die komplizierten Vorgänge bei der Teilung. Aus dem Caryosom des Kerns tritt am Beginn der Kernteilung ein dem Parabasalkörper oder Caryoplast anderer Flagellaten homologes Körperchen aus, und begibt sich an die Kernmembran. Dieses teilt sich und die Teilstücke wandern während der Längsteilung des inzwischen an das Reservoir emporgeschiebten Kerns entlang der Kernmembran auseinander. Sie spalten je ein Körnchen ab, das an die Wand des Reservoirs hinauswandert, durch einen Rhizoplasten mit dem Parabasalkörper verbunden bleibt und den



Textfig. 2. Schema der Kern- und Zellteilung von *Euglena gracilis* (nach BAKER, 1926). n = Kern, end. = Caryosom, bl. = Blepharoplast, b. b. = Basalkorn, gr. = Parabasalkörper, ch. m. = Rest des losgelösten Parabasalkörpers, r = Rhizoplast. A schwärmende Zelle B und C Austritt des Parabasalkörnchens aus dem Caryosom, D Teilung desselben und Beginn der Kernteilung, E—G Abspaltung der Blepharoplasten aus dem Parabasalkörnchen und Teilung derselben in je zwei Basalkörner, Bildung der beiden Äste der neuen Geißeln aus den Basalkörnern, Resorption der alten Geißel, die Kernteilung ist im vollen Gange. H—K Zellteilung, die Verbindung der Parabasalkörper mit dem Kern geht verloren. L Tochterzelle, der Rest des abgelösten Parabasalkörpers ist im Plasma zu sehen.

Blepharoplasten der Geißel darstellt. Jeder Blepharoplast spaltet noch ein zweites Basalkorn ab, und so entstehen zunächst je zwei Geißeln, von denen die eine kurz bleibt und mit der längeren unter Bildung der Verdickungsstelle mit ihrem obersten Ende verschmilzt, so daß nur im basalen Teil die Spaltung übrig bleibt. Die alte Geißel mit ihren zwei Basalkörnern wird inzwischen resorbiert. Die Kernteilung und die Teilung des Plasmaleibes sind inzwischen fortgeschritten und die Tochterkerne rücken wieder in die Tiefe. Der Parabasalkörper löst sich hierauf ganz vom Kern los und ist zunächst noch durch den Rhizoplasten mit dem Blepharoplast in Verbindung. Auch diese Verbindung löst sich dann und der Rest des Parabasalkörpers ist bis zur nächsten Teilung als färbbares Körnchen im Plasma zu sehen. Ältere Autoren haben ihn schon festgestellt, ohne seine Natur zu erkennen (BLOCHMANN 1894, TERNETZ 1912). Ähnlich scheint die Neubildung der Geißel bei der Teilung nach HALL (1923) auch bei *Menoidium* zu verlaufen. Nur soll hier die rhizoplastische Verbindung des Blepharoplasten (Basalkorns) mit dem Parabasalkörper des Kerns dauernd erhalten bleiben. Dasselbe stellte HAASE (1910) für *Euglena sanguinea* fest, doch handelt es sich möglicherweise hier um die Beobachtung eines Teilungsendstadiums. Dagegen scheint bei *Phacus* (BRETSCHNEIDER l. c.) und *Trachelomonas* (PLENGE l. c.) tatsächlich die Verbindung mit dem Kern ständig erhalten zu bleiben.

Nach diesen neueren Untersuchungen ist es nun klar, daß bei jeder Teilung Neubildung der Geißeln für die Tochterzellen erfolgt und daß die Basalkörner für die Bildung der Geißeln aus dem Caryosom des Kerns hervorgehen, ein Vorgang, den wir in ähnlicher Form bei anderen Flagellaten kennen und als einen Beweis dafür ansehen, daß die motorische Komponente im Kern lokalisiert ist. Dabei scheinen sich die verschiedenen Gattungen der Eugleninen insofern verschieden zu verhalten, als bei manchen die Geißel doppelt angelegt wird und daher eine Gabelung der Basis aufweist, bei anderen jedoch einfach ist, und daß bei manchen Formen die Verbindung zwischen Basalkorn und Parabasalkörper während des vegetativen Lebens der Zelle erhalten bleibt, bei anderen nicht.

Der Zellkern der Euglenen, dessen Größe und Lage im Körper bei den meisten Arten verschieden und für sie charakteristisch ist, ist ein echter Caryosomkern. Das Caryosom ist meist homogen, bei manchen Arten zeigt es gelegentlich einen Zerfall in Teilstücke, der jedoch von keiner prinzipiellen Bedeutung zu sein scheint. Seine Größe schwankt nach den Lebensbedingungen, ebenso der Reichtum

des Außenkerns an Chromatinbrocken, die oberflächlich gelagert und vom Caryosom durch eine hyaline Zone getrennt sind. Degenerierte Zellen haben einen chromatinarmen Kern mit kleinem Caryosom, während gesunde Zellen meist ein großes Caryosom führen und zahlreiche stark färbbare Chromatinbrocken im Außenkern. Ihre Anordnung in radiären Strahlen, wie KARL (1915) sie abbildet, ist, soviel ich feststellen konnte, nur eine Täuschung, die leicht bei der Bewegung der Mikrometerschraube entsteht. Die Gestalt des Kerns ist stets kugelig. Die zackige Form, die manche Autoren gesehen haben (zuletzt POPOFF u. PASPALEFF 1924), beruht durchwegs auf schlechter Fixierung oder Schrumpfung der Kerne bei der Entwässerung, die besonders leicht bei degeneriertem Zellmaterial eintritt. Bei starken metabolischen Bewegungen des Körpers, wie sie bei *Euglena intermedia* und *E. Klebsii* vorkommen, kann der Zellkern vorübergehend eingeschnürt und weitgehend deformiert werden; bei Nachlassen des Druckes der Pellicula nimmt er sofort wieder die runde Gestalt an.

BLOCHMANN (1894) und KEUTEN (1895) waren die ersten, die den mitotischen Charakter der Euglenen-Kernteilung richtig erkannt haben. Früher hielt man ihre Kernteilung für einen besonderen, primitiven Typus und noch DANGEARD (1901) und ALEXEIEFF (1911, 1913) verfochten ähnliche Ansichten und stellten den Begriff der „Haplomitose“ auf, einer Teilungsart, bei der ein aus dem Außenkern entstehendes „Chromospiren“-Netz einfach durchschnürt werden soll. Auch die „Amitosen“ und „Haplomitosen“, die STEUER (1903) für *Eutreptia*, DANGEARD (1910) für *Euglenopsis* und *Peranema* und v. PROWAZEK (1903) für *Entosiphon* beschreiben, sind wohl durchwegs falsche Deutungen technisch mangelhafter Präparate. In jüngster Zeit spricht noch JIROVEC (1926) von „Amitosen“ bei Euglenen, gibt allerdings zu, daß es sich um pathologische Erscheinungen handeln könnte. HAASE (1910) kam bei Untersuchungen über *Euglena sanguinea* zu der Ansicht, daß wohl Chromosomen vorhanden sind, die jedoch aus dem Caryosom entstehen, während der Außenkern „Chromospiren“-Durchschnürung zeigt. Ihre Resultate können wohl angesichts der späteren Untersuchungen nicht mehr als zutreffend gelten. Erst die Arbeit TSCHENZOFF's (1916) hat wieder Klarheit in den Widerstreit der Meinungen gebracht. Er beschreibt im großen und ganzen die Kernteilung richtig, glaubt aber, daß die Chromosomenhälften, die in der Ana- oder Telophase durch Längsspaltung entstehen, persistieren und erst in der Metaphase der nächsten Kernteilung auseinander weichen. BĚLAŘ (1926) diskutiert die bisher aufgestellten

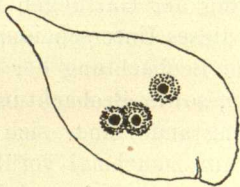
Theorien der Euglenenkernteilung, kommt zu dem Schluß, daß TSCHENZOFF'S Ergebnisse den Tatsachen vollkommen entsprechen und leugnet die Existenz irgendwelcher amitotischer oder haplo-mitotischer Vorgänge. Nur die Chromosomenspaltung in der vorhergehenden Kernteilung hält er für nicht genügend in den Abbildungen TSCHENZOFF'S begründet. Die Untersuchungen BAKER'S (1926) an *Euglena gracilis* und HALL'S (1923) an *Menoidium* sind eine glänzende Bestätigung der Ansichten TSCHENZOFF'S und BĚLAŘ'S. Die Euglenenkernteilung ist also eine echte Mitose. Die Chromosomen bilden sich nur aus den Chromatinbrocken des Außenkerns und zwar meist in sehr großer Zahl. TSCHENZOFF gibt ca. 100 für *E. viridis* an, HALL für *Menoidium* allerdings nur 12, nach BAKER'S Abbildungen sind bei *E. gracilis* ca. 20 vorhanden. DANGEARD'S Chromosomenzahlen sind wohl sehr revisionsbedürftig. Das Vorhandensein eines Centriols im Caryosom, das BĚLAŘ (1916) und andere Autoren bei Eugleninen gesehen haben wollen, stellt BĚLAŘ später (1926) selbst in Abrede. Ob man nun die aus dem Caryosom stammenden Parasalkörper oder das sich streckende und sich hantelförmig durchschnürende Caryosom selbst als „aktiv“ motorisch wirksam annehmen will, ist Ansichtssache. Auf jeden Fall steht es fest, daß die lokomotorische Komponente des Euglenenkernes nur im Caryosom, die idiogenerative Komponente dagegen nur im Außenkern lokalisiert ist. Nur bei den primitiven Scytomonaden scheinen die Chromosomen auch aus dem Caryosom hervorzugehen (SCHUESSLER 1917). Die Teilung der Chromosomen ist eine Längsspaltung; wo Querteilung der Chromosomen behauptet wurde, war dies eine Täuschung, hervorgerufen dadurch, daß die Spalthälften parallel aneinander vorbei gleiten können. Nach BAKER und HALL findet die Chromosomenspaltung nicht in der vorhergehenden Teilung statt, sondern in der gleichen Teilung, in der sie zur Bildung der Tochterkerne auseinanderweichen. Ich kann mich auf Grund der Untersuchung zahlreicher Euglenenarten dieser Meinung anschließen. Die Chromosomenzahlen, die ich sah, waren stets sehr groß, die Chromosomen aber sehr distinkt ausgebildet und ihre Längsspaltung ausgezeichnet zu beobachten. Das Caryosom war meist homogen, auch während seiner Durchschnürung. Die bei starker Differenzierung von HEIDENHAIN-Präparaten oder Anwendung von Mehrfachfärbungen hier und da in ihm sichtbar werdenden Strukturen sind ganz zufälliger Natur und haben mit der Kernteilung nichts zu tun.

Manche Autoren geben an, daß die meisten Kernteilungen in den Abendstunden, andere, daß sie in den Morgenstunden erfolgen,

auch die Jahreszeit soll darauf einen Einfluß haben. In den Kulturen teilen sich die meisten Zellen in der Zeit zwischen 11 und 1 Uhr nachts. Die Durchschnürung des Plasmaleibes beginnt stets am Vorderende nach der Verdoppelung der dort sitzenden Organellen und stellt eine Längsteilung dar. Die von den meisten Autoren gelegnete Querteilung des Körpers will TANNREUTHER (1923) bei *Euglena gracilis* gesehen haben. Sie soll dadurch zustande kommen, daß eine Gruppe der durch Teilung verdoppelten Organellen des Vorderendes und ein Tochterkern an die Mittellinie des Körpers hinunterrückt und der Plasmaleib dann quer durchschnürt wird. Seit KLEBS die Behauptung aufstellte, daß die Euglenen sich nur in der Ruhe, die Astasien dagegen nur in Bewegung teilen, wurde dieses Merkmal wiederholt zur Unterscheidung der Gattungen verwendet. Später zeigte sich immer mehr, daß dieses Unterscheidungsmerkmal nicht aufrecht zu erhalten sei. Die Beobachtung der von mir kultivierten 25 verschiedenen Eugleninen, sowie Beobachtungen in der Natur lehrten, daß alle Eugleninen imstande sind, sich im schwärmenden Zustand zu teilen, wobei sie nur manchmal vorübergehend bis zur Ausbildung der neuen Geißeln zu Boden sinken, daß aber auch die meisten Eugleninen im metabolischen Bewegungszustand oder mit Schleimhüllen oder deutlichen Membranen versehen die Zellteilung durchzuführen vermögen. Die mit Vorliebe lebhaft schwärmenden Formen, wie *Euglena gracilis* und *Astasia* und die starren Arten, wie *E. oxyuris*, *E. tripteris* und *Phacus* trifft man meist im schwärmenden Zustand in Teilung, die mit Vorliebe metabolisch kriechen, wie *Euglena intermedia* und *E. Klebsii*, teilen sich in dieser Bewegungsart, bei den Arten, die zur Bildung palmelloider Zustände oder zur Bildung von „Wasserblüten“ neigen, wie *Euglena viridis*, *E. anabaena* und *Colacium* kommt meist die Teilung abgerundeter ruhender Zellen zur Beobachtung. Der schwärmende, der metabolische und der palmelloide Zustand erwiesen sich als gleichwertige Wuchsformen der Euglenen. Doch sind nicht alle Arten imstande, in allen drei Zuständen für längere Zeit weiterzuleben. Bei der Besprechung der kultivierten Arten, sowie in dem Kapitel über den Einfluß von Außenfaktoren auf die Wuchsform soll Näheres darüber berichtet werden. Auf jeden Fall ist die Unterscheidung der Gattungen nach der Teilung in Ruhe oder in Bewegung nicht berechtigt und daher sind die von MOROFF (1904) beschriebene *Euglena quartana*, sowie die „*Euglena hyalina*“ anderer Autoren der Gattung *Astasia* zuzurechnen.

Unter ungünstigen Lebensbedingungen kommt es oft zu unvoll-

ständigen Zellteilungen, die Euglenen hängen dann mehr oder weniger mit dem Hinterende zusammen, auch drei bis fünf Individuen konnten auf diese Weise verbunden beobachtet werden. Diese Abnormitäten treten in Kulturen auch bei *Chlamydomonas* und *Polytoma* nicht selten auf und wurden von einigen Autoren irrtümlich für Copulationszustände gehalten. Unter Umständen kann es auch zu einer so starken Störung der Korrelation zwischen Kern- und Zellteilung kommen, daß der Kernteilung überhaupt keine Zellteilung mehr folgt. Es entstehen dann mehrkernige Individuen (Textfig. 3). Solche zwei- bis fünfkernige Zellen sowie die unvollständigen Zellteilungen treten dann auf, wenn die Bedingungen der Teilung zwar günstig sind, jedoch Nahrungsmangel herrscht, so daß



Textfig. 3. Mehrkernige Zelle von *Astasia ocellata* aus einer alten Kultur in einem Erde-Käse-Röhrchen. Schematisch nach einem Hämatoxylinpräparat.

die Zellen nicht genügend Baustoffe zur Durchführung der mit der Zellteilung verbundenen Wachstumsvorgänge zur Verfügung haben. In sehr alten Anhäufungskulturen, in denen die Nährstoffe schon aufgebraucht sind, sowie bei Überführung von gesundem Euglenenmaterial in stark verdünnte Nährlösung oder reines Wasser treten derartige Bedingungen ein.

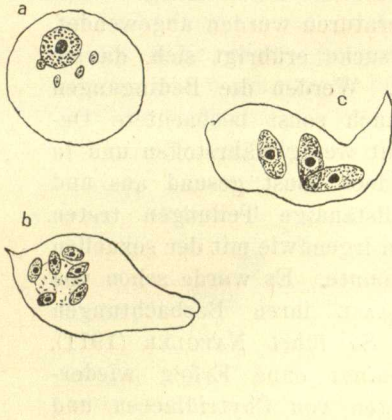
Sexuelle Fortpflanzungszustände wurden bei höheren Euglenen noch niemals

mit Sicherheit nachgewiesen, nur bei den primitiven Scytomonaden kommt geschlechtliche Vermehrung vor (DOBELL 1908, BERLINER 1909). Wenn man von den phantastischen Vorstellungen älterer Autoren (z. B. STEIN 1878) absieht, hat nur HAASE (1910) Beobachtungen über sexuelle Fortpflanzungszustände bei Euglenen (*E. sanguinea*) beschrieben. Weder vorher noch nachher gelang es einem anderen Forscher bei Euglenen irgendwelche Zustände zu finden, die mit der Bildung von Gameten oder ihrer Verschmelzung verglichen werden könnten. Die Kultur der Euglenen gibt uns ein willkommenes Mittel in die Hand, diese den verschiedensten äußeren Bedingungen auszusetzen und so die vielleicht seltenen geschlechtlichen Fortpflanzungszustände hervorzurufen, die in der Natur möglicherweise durch andere Organismen verdeckt und daher schwer zu finden sein könnten. Trotz wiederholter Versuche ist es mir jedoch nicht gelungen irgendwelche Vorgänge sexueller Art zu erzielen, auch zahlreiche Beobachtungen in der Natur ergaben keine Anhaltspunkte dafür, daß es solche bei Euglenen gibt. Die Versuche wurden mit Rohmaterial von *Euglena sanguinea*, mit Rohmaterial

und Reinkulturen von *E. viridis*, *E. deses* und *E. Klebsii* durchgeführt und zwar wurde zunächst der von HAASE beschrittene Weg eingeschlagen. Die Euglenen wurden in stark verdünnte KNOP'sche Nährlösung gebracht, bei vollem Tageslicht gehalten und die Lösung steigend mit Wasser verdünnt. In anderen Versuchen erfolgte direkte Überführung der Euglenen aus den verschiedensten Nährlösungen und von Agar in Wasser bei starker Beleuchtung. Auch Verdunklung, höhere und tiefere Temperaturen wurden angewendet. Eine detaillierte Beschreibung der Versuche erübrigt sich, da sie durchweg negative Resultate lieferten. Werden die Bedingungen ungünstig, bekommt man allerhand auch sonst beobachtete Degenerationsformen. In den Kulturen mit wenig Nährstoffen und in Wasser sehen die Zellen verhungert, doch sonst gesund aus und bleiben lange Zeit am Leben. Unvollständige Teilungen treten häufig auf, doch keine Vorgänge, die man irgendwie mit der sexuellen Fortpflanzung in Verbindung bringen könnte. Es wurde schon von mehreren Autoren bezweifelt, daß HAASE ihren Beobachtungen die richtige Deutung gegeben hat. So führt NÄGLER (1911), der ihre Versuche mit *Euglena sanguinea* ohne Erfolg wiederholt hat, den Irrtum auf das Auftreten von Chytridiaceen und Microsporidien zurück, die er in dieser Euglene als intracelluläre Parasiten gefunden hat und beschreibt. Außerdem hält er auch die Verwechslung mit fremden Organismen für möglich. Da die Beobachtungen HAASE'S sich nur auf ein einziges Material beschränken, zudem noch größtenteils nicht im Leben, sondern nur an gefärbten Präparaten gemacht worden sind, deren bloße Kombination schon oft zu Trugschlüssen Anlaß gegeben hat, ist dieser Verdacht nicht von der Hand zu weisen. Manche Bilder HAASE'S könnten wohl auch auf die Mißdeutung von Zwergformen oder unvollständigen Teilungen zurückgehen, wie sie bei Nahrungsmangel so oft auftreten, z. B. die Gameten und ihre zweikernigen Verschmelzungsstadien. Auch ich habe in *Euglena sanguinea* sehr oft Parasiten feststellen können, die in manchen Stadien dem Zellkern der Euglenen selbst ähneln (Textfig. 4). Es kann eine *Euglena* auch von mehreren Parasiten infiziert sein. Ist der Parasit herangewachsen und hat er den Zellinhalt nahezu vollständig aufgezehrt, so teilt er sich in zahlreiche Zoosporen, die die Pellicula durchbrechen und aus der toten Hülle ausschwärmen. Sie führen in ihrem Zellinhalt außer Hämachrom auch Reste des Chlorophylls, beides gefressene Überbleibsel des Euglenenzellinhaltes. Bei flüchtiger Betrachtung könnte man die Zoosporen für ausschlüpfende Gameten der Euglene

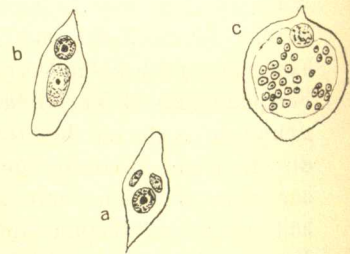
selbst halten. Schon KLEBS (1883) hat ähnliche Parasiten beobachtet und DANGEARD (1889) solche unter dem Namen *Sphaerita endogena* in *Euglena sanguinea*, *E. viridis* und *Phacus* beschrieben. Ich konnte Parasiten dieses Typus auch häufig in *Euglena viridis* feststellen, besonders wenn dichtes Rohmaterial im Laboratorium längere Zeit sich selbst überlassen blieb (Textfig. 5).

Außerdem tritt in absterbendem Rohmaterial auch noch oft eine Chytridiacee, *Polyphagus Euglenae*, auf, die mit ihren plasmodialen Fortsätzen eine größere Zahl von



Textfig. 4.

Textfig. 4. *Euglena sanguinea*, von Chytridiaceen infiziert. Schematisch nach Präparaten mit WEIGERT'schem Hämatoxylin. a Die Euglene ist von mehreren Schwärmern des Parasiten infiziert worden, die sich um den Kern der Euglene lagern. b Die Parasiten sind größer geworden, während der Kern degeneriert. c Drei erwachsene Parasiten in der Euglenenzelle, die sich noch weiter bewegt, trotzdem ihr Kern schon restlos zerstört ist. d In der toten Euglenenzelle sind durch simultane Teilung aus einem Parasiten zahlreiche Schwärmer unter Bildung eines Restkörpers entstanden. Diese Schwärmer infizieren wieder andere Euglenen.



Textfig. 5.

Textfig. 5. *Euglena viridis*, von Chytridiaceen infiziert. a Zwei junge Parasiten in einer Euglene. b Ein erwachsener Parasit neben dem Euglenekern. c Im Sporangium des Parasiten sind zahlreiche Schwärmer entstanden. Der Kern der Euglene ist bereits degeneriert. Schematisch nach WEIGERT-Hämatoxylinpräparaten.

palmelloiden Euglenenzellen anbohrt und aussaugt (DANGEARD 1900, WAGER 1913). Die simultane Teilung in ganz kleine Zellen, die RYDER (1893) bei *Euglena viridis* sah, dürfte wohl auch der Vermehrungsvorgang eines Parasiten gewesen sein. Nach alledem liegt also bisher keine zuverlässige Angabe über geschlechtliche Fortpflanzungszustände bei Euglenen vor und diese dürften vollkommen agam oder apogam sein.

III. Kulturmethoden.

Über die Technik der in unserem Institut verwendeten Methoden der Algenkultur hat PRINGSHEIM (1926) berichtet, und ich will daher auf allgemeine Fragen des Gebietes nicht eingehen, sondern nur über die speziell bei der Kultur von Eugleninen gebrauchten Methoden einiges sagen. ZUMSTEIN (1900), der sich als erster mit der Kultur von *Euglena gracilis* beschäftigte, trachtete auf dem Wege von Anreicherungsverfahren zum Ziele zu gelangen. Dabei nützte er die geringe Säureempfindlichkeit von *E. gracilis* aus, die es ihm gestattete, durch Verwendung von freier Zitronensäure in der Nährlösung das Wachstum der Bakterien zurückzudrängen. Durch Übertragung einzelner Euglenen in frische Nährlösung wurden sie weiter gereinigt. TERNETZ (1912), die den gleichen Stamm wie ZUMSTEIN verwendete, gelang es durch Herausfangen einzelner Individuen mit der Zeit zu einer bakterienfreien Kultur zu gelangen. Sie stellte die von ZUMSTEIN gefundene große Säureresistenz der Euglene in Abrede, verwendete aber immerhin noch bis zu 1 Proz. freier Zitronensäure in den Lösungen. Ich konnte in so stark sauren Lösungen, auch bei Verwendung von 1 Proz. und mehr Pepton, bei mehreren Stämmen von *E. gracilis* niemals gutes Wachstum bekommen. Auch andere Autoren haben sich schon früher ganz entschieden gegen die Behauptung von der großen Säureresistenz von *E. gracilis* gewendet und erzielten mit der „ZUMSTEINschen Nährlösung“ keine Erfolge. Auch allmählich ließen sich die Euglenen nicht daran gewöhnen (PRINGSHEIM 1912). LINSBAUER (1915) hat eine Euglene, die wahrscheinlich *E. Klebsii* war, auf ihre Widerstandskraft gegen verschiedene organische Säuren untersucht und festgestellt, daß gerade Zitronensäure die giftigste ist. Sie wirkt in reinem Brunnenwasser schon bei 0,07 Proz. letal. Der Gehalt der Nährlösung an organischen Substanzen erhöht allerdings die Säurefestigkeit, doch tritt in den von ZUMSTEIN und TERNETZ angegebenen Säuregraden auf keinen Fall Vermehrung ein, wenn die Zellen auch zur Not weiterleben. Vielleicht haben die von ihnen für die Nährlösung verwendeten organischen Substanzen die Säure teilweise gebunden oder war ihr Stamm mit besonderer Widerstandskraft gegen die Säure ausgestattet. Meine Stämme von *E. gracilis* vermehrten sich in 0,25 Proz. Liebig's Fleischextrakt noch schwach bei 0,2 Proz. Zitronensäure. *E. Klebsii* vermehrte sich in dieser Nährlösung noch gut bei 0,2 Proz. Zitronensäure, *E. viridis*, *E. deses*, *E. pisciformis* und *E. minima* dagegen nicht

mehr bei 0,05 Proz. Säure in 0,25 Proz. Fleischextrakt. Die übrigen von mir untersuchten Arten sind noch empfindlicher. Ähnliche Resultate hatte auch KOSTER (1921), der die letale Konzentration der Zitronensäure für sieben verschiedene Arten feststellte. Die Ansäuerung der Nährlösung erweist sich also nicht als zureichendes Mittel, um Anhäufungskulturen zu erzielen. Dagegen bewährte sich die von PRINGSHEIM (1921) angegebene Methode, ein wenig Casein oder Käserinde am Grunde eines Röhrchens mit Erde und Wasser zu überschichten und zu pasteurisieren, sehr gut zur Anhäufung farbloser Eugleninen. Die langsame Zersetzung der Eiweißkörper durch anaerobe Bakterien führt ständig Nährstoffe in der richtigen Menge zu. Stellt man die Röhrchen ins Licht, so kommen auch grüne Formen sehr gut darin fort, werden allerdings leicht von Protococcalen überwuchert.

PRINGSHEIM (1912) versuchte als erster das Plattengußverfahren für die Isolierung von Euglenen und hatte sehr gute Erfolge damit. Außer *Euglena gracilis* konnte er auch *E. deses*, *E. viridis* und *Phacus pleuronectes* (? Verf.) in der Platte zum Wachstum bringen. Er betont, daß die verschiedenen Arten Kolonien von ganz charakteristischer Gestalt im Agar bilden, die man bei Verwendung des gleichen Substrates als Unterscheidungsmerkmal der Arten verwenden könnte. Auf diese Eigentümlichkeit soll bei der Besprechung der kultivierten Arten näher eingegangen werden. Ich benützte den Plattenguß mit 1,5 Proz. Agar bei den meisten Arten mit Erfolg zur Erzielung der Speziesreinkulturen, die meist nur wenig Bakterien enthielten. Dem Agar wurde dabei eine synthetische Nährlösung mit Nitrat als N-Quelle zugesetzt. Agar mit Ammonsalzen bewirkt zwar manchmal bessere Vermehrung der Euglenen, bietet aber den Pilzen so gute Bedingungen, daß diese die Agarplatte leicht überwuchern und sind daher nicht immer zu empfehlen. Die starren und die großen Euglenenarten vermehren sich in der Agarplatte fast gar nicht. Für ihre Isolierung mußte meist zum Herausfangen einzelner Individuen geschritten werden, ebenso dann, wenn die gewünschte Art in einem Artgemisch so spärlich vertreten ist, daß Plattengüsse keine Aussicht auf Erfolg haben. Zum Herausfangen unter dem Binokularmikroskop wurden kurze Glasröhrchen verwendet, die am Ende zu einer feinen Pipette ausgezogen waren. Es empfiehlt sich das äußerste Ende noch einmal kurz und ganz fein auszuziehen, damit die Flüssigkeit nicht zu schnell eingesaugt wird. Führt man die Euglenen durch wiederholtes Herausfangen einigemal durch steriles Wasser, so gelangt man leicht zu Spezies-

reinkulturen. Allerdings hat das Verfahren des Einzelfanges ebenso wie der Agarplattenguß bei manchen großen Euglenenformen ganz versagt, die herauspipettierten Individuen waren in keiner der verwendeten Nährlösungen zur Vermehrung zu bringen. GURWITSCH (1926) deutet derartige Mißerfolge so, daß bei Isolierung einzelner Zellen die „mitogenetische Induktion“ anderer Zellen fehlt und sie sich daher nicht weiter teilen können. Ich möchte eher glauben, daß die wohl immer in den künstlichen Nährlösungen oder dem Glas vorhandenen oligodynamisch wirksamen Giftstoffe hier eine Rolle spielen. Die oligodynamische Giftwirkung, die wahrscheinlich eine Adsorptionerscheinung ist, äußert sich natürlich an einem einzigen Individuum viel stärker, als wenn eine größere Menge von Zellen in die gleiche Menge der Lösung übertragen wird, wie dies z. B. bei der Übertragung ganzer Kolonien aus dem Agar in die Nährlösung der Fall ist (vgl. auch LOEHNER und MARKOVITS 1922). Sowohl beim Plattenguß wie beim Einzelfang empfiehlt es sich, stets nur schwärmende Zellen zu verwenden, da ihre Oberfläche von anhaftenden Bakterien frei ist. Das eingesammelte Rohmaterial darf daher nie längere Zeit im Laboratorium stehen gelassen werden, da die meisten Euglenen dann in palmelloide Zustände übergehen und die Bakterien überwuchern.

Die Euglenenkolonien wurden aus dem Agar mit einem feinen Platinspatel unter dem Binokularmikroskop herausgestochen. Sie wurden meist in Erdabkochung übertragen, ebenso die mit der Pipette einzeln herausgefängenen Individuen. Diese Lösung bewährte sich zur Anzucht und Weiterführung von Speziesreinkulturen bei allen grünen Eugleninen ganz ausgezeichnet, ebenso bei vielen Chlamydomonaden, Volvocalen, Protococcalen, Cryptomonaden, Chrysoomonaden, Diatomeen, Desmidiaceen und Fadenalgen, die ich zu kultivieren Gelegenheit hatte. Sie wurde von PRINGSHEIM eingeführt und wird so hergestellt, daß Gartenerde mit der gleichen Menge Leitungswasser oder Brunnenwasser eine Stunde lang im Dampftopf erhitzt wird. Dann läßt man die Flüssigkeit 1—2 Tage absetzen, dekantiert die noch schwach trübe Lösung ab und bewahrt sie in gut verstöpselten Vorratsflaschen mit einer größeren Menge Äther versetzt auf. Bei längerem Stehen setzt sich der restliche feine Niederschlag ganz ab, so daß eine glasklare mehr oder weniger bräunlichgelbe Lösung entsteht. Diese wird zum Gebrauch mit der 4—6fachen Menge doppelt destillierten Wassers verdünnt. Der Äther entweicht beim Sterilisieren. Die Erdabkochung ist bei der Kultur aller grünen Euglenen und vieler anderer Algen

den synthetischen Nährlösungen bedeutend überlegen, ja einige große Euglenenarten waren in synthetischen Lösungen überhaupt nicht oder nur schwer zur Vermehrung zu bringen, während sie im Erddekot ausgezeichnet gediehen. Die Lösung enthält nur sehr wenig organische Substanzen und ist schon deswegen für die Weiterzüchtung von Speziesreinkulturen sehr geeignet, da die Bakterien niemals überwuchern. Die in ihr enthaltenen organischen Stoffe kommen auch für die Euglenen kaum als Nährstoffe in Betracht, Aminosäuren, die wie später gezeigt werden soll, die einzige für Euglenen verwertbare organische N-Quelle darstellen, sind in ihr nicht vorhanden und im CO_2 -freien Raum erfolgt in ihr kein Wachstum, so daß auch Substanzen, die als C-Quelle dienen, darin nicht anwesend sein können. Die Überlegenheit der Erdabkochung gegenüber den synthetischen Lösungen kann auf verschiedenen Ursachen beruhen. Zunächst dürften die lebensnotwendigen Ionen in ihr in einem richtigen Mengen- und Mischungsverhältnis gegeben sein, es handelt sich um eine „balanzierte“ Lösung, die auf synthetischem Wege nur schwer herstellbar ist. Dazu kommt, daß die Erdabkochung sowohl gegen Alkali als auch gegen Säure puffernd wirkt. Dies zeigen schon die geringen Schwankungen der H-Ionenkonzentration während des Wachstums der Euglenen. Diese durch den starken Verbrauch des N-haltigen Ions hervorgerufene einseitige Verschiebung der Reaktion spielt bei den synthetischen Nährlösungen, wie später noch gezeigt werden soll, eine große Rolle. Bei der Erdabkochung sind sie jedoch dank ihrer Pufferwirkung sehr gering. Die Messungen der H-Ionenkonzentration wurden nach MICHAELIS mit Nitrophenolen durchgeführt und erwies sich auch später als ein wichtiges Hilfsmittel bei der Beurteilung ernährungsphysiologischer Versuche. Die Erdabkochung zeigt vor der Impfung einen P_H -Wert von 6,7, nach dem Wachstum von verschiedenen Euglenenarten durch 8 Wochen Werte von 6,8—7,1. Die Veränderungen des P_H -Wertes waren also sehr gering, viel geringer als in synthetischen Nährlösungen, obwohl die Vermehrung der Euglenen stärker war. Sie zeigen an, daß in der Erdabkochung Nitrate als N-Quellen von den Euglenen verwendet werden. Um die puffernde Wirkung der Erdabkochung zu prüfen, wurde einerseits Säure, andererseits Lauge in gestellten Lösungen zugesetzt und die Veränderungen der P_H -Werte gemessen. Es ergab sich, daß bei Zusatz von 4,5 ccm einer 0,01 n HCl-Lösung zu 100 ccm der verdünnten Erdabkochung ihr P_H -Wert von 6,7 auf 5,7 erniedrigt wird, bei Zusatz von 9 ccm einer 0,01 n NaOH-Lösung wird er von 6,7 auf 7,7 erhöht. Wenn man die

gleichen Säure- bzw. Laugemengen einer synthetischen Nährlösung von derselben Anfangsreaktion zusetzt, bekommt man bedeutend stärkere Verschiebungen der P_H -Werte.

Noch ein anderer Faktor scheint die günstige Wirkung des Erdkoktes mitzubedingen. Dieser äußert sich gleich nach der Impfung darin, daß die Zellen starke Neigung zum Schwärmen zeigen und die Zellvermehrung sofort einsetzt, auch ungesunde mit Reservestoffen überfüllte Zellen erholen sich meist rasch in der Erdabkochung und beginnen sich zu teilen. Ganz anders verhält es sich in synthetischen Lösungen, in denen meist ein starker „Impfschok“ zu beobachten ist, der die Zellen zum Übergang in den palmelloiden Zustand veranlaßt und Zellteilungen erst nach einer gewissen Gewöhnungszeit auftreten läßt. Mit Reservestoffen überfüllte Zellen erholen sich in ihnen meist nicht mehr, sondern sterben ab. Man könnte diesen Unterschied mit der Annahme erklären, daß oligodynamisch wirksame Giftstoffe aus den Salzen oder aus dem Glas hier eine Rolle spielen, während sie in der Erdabkochung durch kolloide Bestandteile der Lösung adsorbiert und so unschädlich gemacht werden. Eine andere Erklärung wäre die, daß in der Erdabkochung gewisse Stoffe in geringer Menge vorhanden sind, die ähnlich den aus Hefe gewonnenen und als „Bios“ bezeichneten Substanzen in der Art von Vitaminen wachstumsfördernde Wirkungen ausüben. Sie müßten allerdings hitzebeständig sein, da die Lösungen im Dampftopf oder Autoklav sterilisiert wurden. Die ungemein fördernde Wirkung von Torfextrakt, die SAEGER (1925) für das Wachstum von *Lemna* in synthetischen Lösungen, andere Autoren auch für Weizenkeimlinge und gewisse biochemische Prozesse festgestellt haben (KOSTYTSCHEW 1926), versucht man auf diese Weise zu deuten. Torfextrakte lassen sich übrigens gleich der Erdabkochung als Nährlösungen für Euglenen mit Vorteil verwenden, nur scheinen sie weniger Nährsalze zu enthalten. F. v. WETTSTEIN (1921) hat gute Vermehrung vieler Euglenen- und Phacusarten in Agar mit Torfextrakt beobachtet und empfiehlt den Torfagar zur Isolierung von Algen durch Plattenguß. *Trachelomonas*-Arten vermehren sich in dem Agar nicht, was ich bestätigen kann. Um festzustellen, ob die in der Erdabkochung vielleicht vorhandenen wachstumsfördernden oder entgiftenden Stoffe kolloider Natur sind und sich durch Adsorption aus der Lösung entfernen lassen, wurde die Erdabkochung mit Tierkohle behandelt und diese dann abzentrifugiert. Dadurch verschwindet auch die durch die „Humusstoffe“ hervorgerufene gelbe Färbung der Lösung. Bei *Euglena*

viridis war kein Unterschied im Wachstum bei der Verwendung der unbehandelten und der entfärbten Erdabkochung zu bemerken, bei *Euglena gracilis*, *E. velata* und *E. mucifera* dagegen war die Vermehrung in der mit Tierkohle behandelten Lösung deutlich schlechter. *Synura uvella*, die in Reinkultur zum Vergleich herangezogen wurde, konnte sogar in ihr überhaupt nicht fortkommen, während sie in unbehandeltem Erddekot sehr gut wächst. Die günstige Wirkung der adsorbierbaren Stoffe zeigt sich also bei den besonders empfindlichen Formen, die in synthetischen Lösungen überhaupt nicht zum Wachstum zu bringen sind, wie *Synura*, besonders deutlich. Endlich ist es möglich, daß die Lösungsbedingungen für das Eisen in der Erdabkochung so günstig sind, daß dieses wie in einem eigens dazu gewählten Puffergemisch stets in der richtigen Menge in Lösung bleibt. USPENSKI und USPENSKAJA (1925) sehen darin die Hauptbedingung für das gedeihliche Fortkommen von *Volvox* in Reinkultur. Mir gelang es neben anderen empfindlichen Formen auch *Volvox globator* mit sehr guten Erfolgen in Erdabkochung ohne weitere Zusätze in Speziesreinkultur zu halten, wobei die Kolonien sich sehr reichlich vermehrten und durch Monate ohne Umzüchtung am Leben blieben.

Die Befreiung der Speziesreinkulturen von Bakterien erfolgte meist auch durch Plattenguß. Agar mit Mineralsalzen ist dazu nicht geeignet, da die meisten Bakterien in ihm nur kleine oder gar keine Kolonien bilden und daher nicht zu erkennen sind. Sehr gut bewährte sich Agar, der 0,25 Proz. Liebig's Fleischextrakt enthält. Wenn die Fleischextraktlösung sauer reagiert, empfiehlt es sich, sie durch tropfenweisen Zusatz einer dünnen Natriumkarbonatlösung zu neutralisieren. In diesem Agar bilden fast alle Bakterien in kurzer Zeit gut sichtbare Kolonien, ohne sich allzu sehr auszubreiten. Ist die Speziesreinkultur, von der man ausgeht, sehr stark mit Bakterien verunreinigt, so daß eine zu dichte Bakteriensaat im Agar entsteht, so empfiehlt es sich, die Spezieskultur in sterilem Röhrchen abzentrifugieren und 1—3 mal mit sterilem Wasser in der Zentrifuge zu spülen. Da die kleinen Bakterien infolge ihrer relativ großen Oberfläche beim Absinken einen größeren Widerstand erleiden, sammeln sich die großen Euglenen früher als die Bakterien am Grunde des Röhrchens an und man kann auf diese Weise die relative Zahl der Bakterien bedeutend herabsetzen. Von bakterienfreien Stellen der Agarplatte werden dann die Euglenenkolonien in neutralisierte 0,25 proz. Fleischextraktlösung übertragen. Eventuelle Verunreinigungen machen sich dann gleich durch Trübung sichtbar.

Um die absolute Reinheit der Kulturen endgültig festzustellen, wird eine Kultur auch in Bouillon im Brutschrank geprüft und eine Probe am Deckglas fixiert und mit Anilinfuchsin gefärbt.

Auch die großen oder starren Eugleninen, die im Agar nur wenige oder gar keine Zellteilungen ausführen, wurden oft mit Erfolg durch Plattenguß mit Fleischextraktagar gereinigt. Ihre Zellen erhalten sich so lange im Agar lebend, bis die Bakterienkolonien genügend herangewachsen sind und können dann dank ihrer Größe einzeln mit dem Platinspatel entnommen werden. In manchen Fällen gelang es auch durch Herausfangen einzelner Individuen aus Speziesreinkulturen mit der Pipette und wiederholtes Waschen in sterilem Wasser mit der Zeit zu bakterienfreien Kulturen zu gelangen. Doch ist diese Methode wegen ihrer Unsicherheit nur im Notfalle zu empfehlen. Es wurde auch der Versuch unternommen, die von KOLKWITZ (1924) beschriebenen TIETJENS'schen Membranfilter mit bestimmter Porenweite zur Reinigung von Speziesreinkulturen zu verwenden. Es wurden so große Porenweiten gewählt, daß die Bakterien ohne weiteres die Poren passieren können, während die Euglenen vom Filter zurückgehalten werden. Durch wiederholtes Spülen mit sterilem Wasser müßten dann die Bakterien durchgeschwemmt werden und die Euglenen annähernd bakterienfrei auf dem Filter zurückbleiben. Es erwies sich jedoch, daß eine Herabsetzung der Bakterienmenge in der Euglenen-haltigen Flüssigkeit auf diesem Wege nicht zu erzielen ist, offenbar weil die Bakterien an dem Filter adhäreren und sich deshalb nicht durch die Poren spülen lassen.

Die Fortzüchtung der absoluten Reinkulturen erfolgt auf Schrägagar mit Fleischextrakt, da man so sekundäre Infektionen eher bemerkt als in Flüssigkeit. Wenn eine Schrägagarkultur längere Zeit nicht überimpft worden ist und schon Degenerationserscheinungen zeigt, empfiehlt es sich sie in Flüssigkeit zu impfen, da sie sich dann leichter wieder erholt als auf dem Agar. Nur die großen und starren Formen, die auf der Agaroberfläche nicht fortkommen, müssen ständig in Fleischextraktlösung oder Erddekot weitergezüchtet werden. Liebig's Fleischextrakt erwies sich im allgemeinen als ausgezeichnete Nährlösung, meist besser als Erdabkochung. Er bietet auch den Vorteil, daß die Euglenen noch länger im schwärmenden Zustand bleiben und sehr wenig Reservestoffe speichern. Seine Vorteile scheinen teilweise ebenso begründet zu sein, wie die des Erddekotes, außer dem Vorhandensein aller lebenswichtigen Ionen scheint deren richtiges Mengenverhältnis und die Anwesenheit

von stimulierenden oder entgiftenden Stoffen eine Rolle zu spielen. Überdies enthält er organische Stoffe, die wie später noch gezeigt werden soll, als N-Quelle, für einige Eugleninen auch als C-Quelle in Betracht kommen können. Für Liebig's Fleischextrakt wird folgende Zusammensetzung angegeben:

Wasser	19,81 Proz.		Fett	0,25 Proz.
Gesamt-N	9,12 "		Mineralstoffe	20,43 "
NH ₃	0,35 "	} N in Form von	NaCl	3,09 "
Aminoverbindungen	1,00 "		P ₂ O ₅	2,66 "
Albumosen	1,52 "		Kreatin	1,31 "
Kreatin	0,41 "		Kreatinin	4,07 "
Kreatinin	1,44 "			
Xanthinkörper	0,2 "			
Pepton	2,68 "			

Die N-Versorgung der Algen in Fleischextraktlösung erfolgt wohl größtenteils aus den Ammoniumverbindungen, die Lösung wird daher beim Wachstum der Euglenen sauer. Schon darin liegt ein gewisser Vorteil gegenüber der Erdabkochung, da allmähliche Verschiebungen der Reaktion gegen die saure Seite hin im allgemeinen von Euglenen leichter ertragen werden, als solche nach der alkalischen Seite, worauf wir noch zurückkommen.

Jede künstliche Kultur hat eine beschränkte Lebensdauer, da sich eine Reihe von Faktoren durch das Wachstum der Algen ungünstig verändern. Je größer die Flüssigkeitsmenge der Kultur, desto langsamer und allmählicher gehen diese Veränderungen vor sich. Eine genaue Nachahmung der Verhältnisse in der Natur ist daher im Experiment nur während eines beschränkten Zeitabschnittes möglich, während die in großen Wasseransammlungen eintretenden Regulationen, die den Algen eine dauernde Vegetation verbürgen, im Versuch natürlich nicht nachzuahmen sind. Dennoch zeigt der Vergleich richtig kultivierter Algen mit solchen in der Natur, daß der Einwand nicht berechtigt ist, die Kulturformen seien stets abnormal und die an ihnen gewonnenen Befunde daher für die Beantwortung morphologischer und auch physiologischer Fragen nicht oder nur wenig brauchbar. Vorausgesetzt, daß die Nährlösung keinen „Impfschok“ auslöst, und das Impfmateriale aus gesunden Zellen besteht, ist die Vermehrung der Zellen gleich nach der Übertragung am intensivsten. Sie klingt allmählich ab, während die Zellen noch weiter einen gesunden und lebenskräftigen Eindruck machen, was sich bei Euglenen in lebhafter schwärmender bzw.

metabolischer Beweglichkeit und in der Armut an Reservestoffen äußert. Der inhaltsreichen Arbeit von TERNETZ (1912) seien Messungen der Teilungsintensität in einer Kultur mit 1 Proz. Pepton + 1 Proz. Zitronensäure (!?) entnommen:

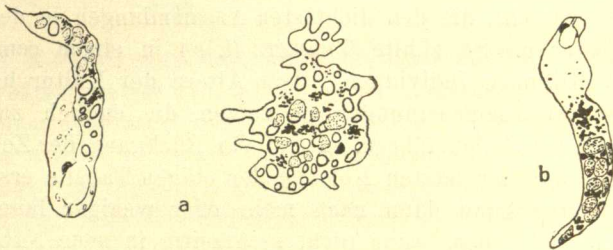
Alter der Kultur	Seit der letzten Zählung entstandene Generationen	Teilungen pro Tag
28 Tage	22,1	0,79
32 "	2,22	0,56
44 "	1,65	0,14
63 "	— 0,29	—

Hat das Wachstum (d. h. die in der Kultur vorhandene absolute Zellenzahl) ihr Optimum erreicht, so haben die Zellteilungen fast aufgehört. Dabei werden in den günstigsten Lösungen oft Wachstumsgrößen erreicht, die den dichtesten Ansammlungen in der Natur nicht nachstehen. So zählte TERNETZ (l. c.) in einem ccm Nährlösung 2,2 Millionen Individuen. Beim Altern der Kultur beginnen sich Degenerationserscheinungen zu zeigen, die endlich zum Tod eines Teiles der Zellen führen, so daß ein Rückgang der Zellenzahl eintritt, wie aus der letzten Kolonne der obigen Tabelle ersichtlich ist. Die Kultur kann dann nach mehr oder weniger langer Zeit vollkommen aussterben, wenn nicht rechtzeitig in neue Nährlösung überimpft wird. Nur selten werden beim langsamen Absterben solcher alter Kulturen Dauercysten gebildet.

Die verschiedenen Arten sind sehr verschieden empfindlich. *Euglena gracilis* hält sich in guten Nährlösungen fast unbegrenzt, wenn man die Austrocknung verhindert, *E. rubida* n. sp. muß alle drei Wochen überimpft werden. Die ungünstigen Veränderungen der Lebensbedingungen in der Kultur machen sich zunächst darin geltend, daß sich Reservestoffe in den Zellen ansammeln, die schwärmende Bewegung eingestellt wird und die Zellen in die palmelloide Wuchsform übergehen. Die Formen, die sich mit Vorliebe metabolisch bewegen, wie *Euglena deses*, *E. intermedia* und besonders *E. Klebsii* schwärmen nur sehr kurze Zeit nach der Überimpfung und gehen dann bald in die metabolische Bewegung über. Erst in sehr alten Kulturen stellen sie diese ein und erstarren in irgendwelchen Formen der Metabolie oder bilden ebenso wie die zur Bildung palmelloider Zustände ebenfalls nicht befähigten großen oder starren Engleninen spindelförmig kontrahierte unbewegliche Zellen. Das Verhalten in den verschiedenen Nährlösungen ist nicht gleich, in Erdabkochung kommt es bald zur Anhäufung von sehr

viel Paramylon, während die Zellen relativ lange beweglich bleiben, in synthetischen Lösungen verlieren sie leicht die Beweglichkeit, speichern dagegen nicht so viel Paramylon, in eiweißhaltigen Flüssigkeiten z. B. Fleischextrakt bleiben sie sehr lange beweglich und speichern fast keine Reservestoffe.

Als Degenerationserscheinung ist im allgemeinen die Speicherung von großen Paramylonmassen aufzufassen, die so weit gehen kann, daß die Zellen gesprengt werden, ferner das Verblässen der Chromatophoren alternder Zellen, die gelblichgrün werden, ihre scharfen Konturen verlieren und endlich auch teilweise absterben. Die Anhäufung von hämochromhaltigem Fett und Chromatinarmut des Kerns sind weitere Anzeichen der Degeneration (Textfig. 6). Alle diese Erscheinungen können wieder rückgängig gemacht werden,



Textfig. 6. Degenerierte Zellen von *Euglena deses*. a Aus einer durch eine Woche verdunkelten Kultur in Fleischextrakt. Die Chromatophoren sind kontrahiert und ausgebläht, das Reservoir abnorm vergrößert, die Zellen in bizarren Formen der Metabolie erstarrt. Außer wenig Paramylon ist Hämochrom abgelagert. b Aus einer Dunkelkultur in synthetischer Nährlösung. Die Chromatophoren sind kontrahiert und intensiv grün, ziemlich viel Hämochrom ist gebildet.

wenn die Zellen rechtzeitig in neue Nährlösung übertragen werden. Die Ursachen für die Degeneration einer Kultur sind verschiedener Natur. Einiges soll in einem späteren Kapitel eingehend besprochen werden. Hier sei nur vorausgeschickt, daß die Meinung älterer Autoren, die Lebensdauer der Algenkulturen sei nur durch die Menge der gebotenen Nährstoffe beschränkt, in den meisten Fällen nicht zurecht besteht. Besonders in synthetischen Nährlösungen sind meist viel mehr Nährstoffe vorhanden, als die Algen während der Kulturdauer aufzehren und ihre Vegetation wird durch ganz andere Faktoren beschränkt. Die Erdabkochung, in der besonders wenig N-haltige Verbindungen vorhanden zu sein scheinen, ist vielleicht die einzige Nährlösung, in der das Wachstum durch den Verbrauch des Stickstoffs oder eines anderen im Minimum vor-

handenen Stoffes begrenzt wird. Von den sonstigen das Wachstum beschränkenden Faktoren spielt vor allem die H-Ionenkonzentration eine entscheidende Rolle, die durch den einseitigen Verbrauch des N-haltigen Ions der Nährlösung im Laufe der Kultur sich verändert. Auf diese Veränderung ist in den meisten Fällen die Degeneration der Kulturen zurückzuführen. Außerdem könnten auch die eigenen Stoffwechselprodukte der Euglenen als Hemmungsstoffe wirksam sein. Um dies festzustellen, wurden je 50 ccm Erdabkochung in Kölbchen aus Jenaglas (zur Vermeidung der schädlichen Ausscheidungen des Kaliglasses) mit Reinkulturen von *Euglena gracilis*, *E. viridis* und *Chlamydomonas umbonata* PASCHER beimpft. Nach vier Monaten waren die reichlich vermehrten Zellen in allen Kulturen typisch degeneriert, am Boden lagen palmelloide Massen abgerundeter Zellen mit ausgeblaßten Chromatophoren, sehr viel Paramylon und Hämochrom, resp. Stärke. Nun wurden soviel ccm einer sterilen konz. Stammlösung der Erdabkochung zugesetzt, daß der ursprüngliche Nährstoffgehalt wieder hergestellt war. Gleichzeitig wurden durch die puffernde Wirkung des Erddekoktes auch die ursprünglichen P_H -Verhältnisse annähernd wieder hergestellt. Trotzdem blieben in den Kulturen von *E. gracilis* und *E. viridis* die Zellen auch weiterhin unverändert im degenerierten Zustand. Nur bei *Chlamydomonas umbonata* bildeten sich zahlreiche gesunde Schwärmer. Bei Euglenen scheinen also eigene Stoffwechselprodukte als Hemmungsstoffe eine Rolle zu spielen, bei *Chlamydomonas* nicht. Sie sind aber nicht hitzebeständig, da gebrauchte Nährlösung nach dem Sterilisieren wieder verwendbar ist, wenn man ihren Nährstoffgehalt ergänzt und ihre ursprüngliche Reaktion wieder hergestellt hat.

IV. Die kultivierten Arten.

1. *Euglena gracilis* KLEBS. Eine Reinkultur dieser Art übernahm ich von Herrn Prof. E. PRINGSHEIM, einen anderen Stamm stellte mir in entgegenkommender Weise Herr Prof. G. SENN in Basel zur Verfügung, zwei weitere Stämme isolierte ich aus einer litoralen Pfütze des Hirschberger Großteichs und aus einem im Laboratorium angesetzten Heuinfus durch Plattenguß. Im Agar bildet *Euglena gracilis* kugelige bis linsenförmige Kolonien aus ziemlich dicht gelagerten abgerundeten Zellen; wenn eine Kolonie an die Agaroberfläche durchbricht, verbreitet sie sich ziemlich rasch über größere Partien der Oberfläche, Wasseransammlungen in Lücken des Agars veranlassen sie sofort zum Schwärmen. Die Kultur

wurde auf Schrägagar mit anorganischen Salzen oder Liebig's Fleisch-extrakt fortgeführt. *Euglena gracilis* ist sehr widerstandsfähig, ihre Lebensdauer im Kulturröhrchen ist fast nur durch die Austrocknung des Substrates begrenzt. Morphologische Unterschiede ließen sich an den kultivierten Stämmen unter gleichen Kulturbedingungen nicht feststellen, das verschiedene Aussehen, das *E. gracilis* am natürlichen Standort oft bietet, wird nur durch verschiedene äußere Bedingungen hervorgerufen. So schwärmt *E. gracilis* in ausgefaultem Teichwasser, in dem schon fast alle übrige Vegetation abgestorben ist, noch lange Zeit und bietet unter gleichbleibenden Temperatur- und Lichtverhältnissen einen vom gewöhnlichen ziemlich abweichenden Eindruck: die Zellen sind fast doppelt so lang als normal, ganz starr, haben abgerundete Enden und sind blaßgrün. In älteren Kulturen mit Erdabkochung sind die schwärmenden Zellen dagegen kurz und aufgetrieben von den vielen großen Paramylonkörnern, die Chromatophoren auch blaß im Gegensatz zu frischen Impfungen in Erdabkochung oder Kulturen in Fleischextrakt oder Erepton, in denen die Schwärmer von der charakteristischen cylindrischen hinten zugespitzten Form und metabolisch beweglich sind, wenig oder gar kein Paramylon und lebhaft grüne Chromatophoren besitzen. Ohne Kenntnis der Zusammenhänge würde man die Extreme dieser Formverschiedenheiten bei flüchtiger Betrachtung für eigene Arten halten (Taf. 10 Fig. 1 u. 2). Auf der Agaroberfläche wächst *E. gracilis* in einem hellgrünen sich rasch ausbreitenden Belag mit feuchter Oberfläche und unregelmäßigen Rändern, der aus palmelloiden Zellen mit dünnen Schleimmembranen besteht, doch auch stets metabolisch bewegliche Zellen enthält. Auch in Flüssigkeitskulturen werden oft, besonders bei plötzlichem Wechsel der äußeren Bedingungen, palmelloide Zustände gebildet. In der Natur kommt *E. gracilis* in größeren Mengen nicht häufig vor, nämlich nur an Standorten, wo langsame Zersetzungen pflanzlicher Stoffe stattfinden; doch vereinzelt zwischen anderen Flagellaten ist sie fast immer zu finden.

2. *Euglena pisciformis* KLEBS wurde durch Plattenguß aus einer Pfütze der Umgebung von Prag isoliert, ein anderer Stamm aus einem Graben bei Hirschberg. Sie bildet im Agar kleine dichte Häufchen, einem Chlamydomonas ähnlich, in Erdabkochung und anderen geeigneten Lösungen zeigt sie sehr reiche Vermehrung im schwärmenden und im Palmellenstadium. Auf der Agaroberfläche bildet sie dichte dunkelgrüne Häufchen mit matter Oberfläche. *E. pisciformis* ist in mehr oder weniger großen Mengen fast in allen Flagellatenassoziationen kleiner Wasseransammlungen zu finden.

3. *Euglena minima* FRANCÉ kommt hier und da in größerer Menge in Pfützen mit reinem Wasser vor. Sie wurde durch Plattenguß isoliert und bildet im Agar kleine lockere Häufchen. Auf der Agaroberfläche wächst sie in hohen schleimigen, hellgrünen Auflagerungen und bildet auch in Flüssigkeitskulturen, in denen sie sich reichlich vermehrt, bald nach Verlust der Schwärmfähigkeit palmelloide Massen mit sehr viel dünnem geschichtetem Schleim um jede Zelle. Der bandförmige Chromatophor zeigt unter ungünstigen Lebensbedingungen oft einen Zerfall in 3—6 scheibenförmige Teilstücke.

4. *Euglena reticulata* MAINX (1926) wurde durch Plattenguß aus einem Dorfteich der Hirschberger Gegend isoliert, wo sie vereinzelt zwischen anderen Euglenen vorkam. Sie zeichnet sich dadurch aus, daß sie in Flüssigkeitskulturen fast niemals schwärmt, sondern nur in festen palmelloiden Verbänden wächst, nur in frischen Impfungen in Erepton sind einzelne schwärmende Zellen zu beobachten. Auf Agar bildet sie feste dichte Auflagerungen von dunkelgrüner Farbe. Ihre Vermehrung ist im allgemeinen in der Kultur nicht gut, sie ist gegen ungünstige Außenbedingungen ziemlich empfindlich und verlangt daher häufige Umimpfung.

5. *Euglena olivacea* SCHMITZ (Taf. 10 Fig. 11) wurde vereinzelt zwischen anderen Euglenen in einem austrocknenden Graben der Hirschberger Gegend gefunden und durch Plattenguß isoliert, wobei sie im Agar kleine Gruppen aus wenigen abgerundeten und mit einer Schleimmembran umhüllten Zellen bildet. Ihre Vermehrung in Erdabkochung ist nicht gut, besser in Erepton. Sie erhält sich lange schwärmend und geht dann in Dauerzustände mit geschichteter schleimiger Membran über. Vermehrung im palmelloiden Zustand wurde nicht beobachtet, dementsprechend kommt sie auch auf der Agaroberfläche nicht fort und muß in Flüssigkeitskulturen weiter gezüchtet werden.

6. *Euglena granulata* (KLEBS) LEMM. wurde aus einem Graben der Prager Umgebung durch Plattenguß isoliert. Sie bildet im Agar kleine lockere Häufchen, in Erdabkochung zuerst schwärmende Zellen, dann palmelloide Zustände mit schleimiger Membran. Die Speziesreinkultur wurde nicht weiter gereinigt. Ganz charakteristisch sind für die Art die deutlichen großen Schleimorganellen, die in Form runder glänzender Körner unter der Pellicula streng spiralig angeordnet sind. Zwischen ihren Reihen verläuft die feine Spiralstreifung der Körperhülle. Durch dieses Merkmal ist die Art vor allem von anderen verwandten Arten, z. B. *E. anabaena* zu unterscheiden. Die

gelbbraune Färbung der Pellicula, die von vielen Autoren beschrieben wird, konnte am kultivierten Material nicht festgestellt werden und beruht in der Natur vielleicht nur auf gelegentlicher Eiseneinlagerung.

7. *Euglena anabaena* MAINX (1926) ist im Bau ihrer Organellen der *E. olivacea* ähnlich, unterscheidet sich aber schon im ganzen Habitus von ihr. Sie tritt massenhaft auf, bildet „Wasserblüten“ und vermehrt sich auch in Kultur im palmelloiden Zustand. Durch Plattenguß wurde eine Speziesreinkultur gewonnen, wobei die Euglene nur 2—6 zellige Kolonien im Agar bildet. Die absolute Reinigung gelang jedoch nicht, da eine in der Kultur vorhandene sehr hartnäckige Bakterienart sich stets an den Euglenenzellen ansetzte und so die Reinigung durch Plattenguß unmöglich machte. Die Speziesreinkultur vermehrt sich gut in Erdabkochung, bildet reichlich Schwärmer, auch Wasserblüte auf der Flüssigkeitsoberfläche und später palmelloide Verbände. Aus der Umgebung von Hirschberg wurden aus Dorfpfützen zwei weitere Stämme isoliert, die sich auch absolut rein gewinnen ließen, und die in ihrem Bau vollständig mit der typischen aus dem Prager botanischen Garten stammenden *E. anabaena* übereinstimmen. Nur in der Größe und der Zahl der Chromatophoren unterscheiden sie sich von ihr. Während *E. anabaena* im schwärmenden Zustande 88—94 μ lang, 20—25 μ breit ist und 8—14 Chromatophoren zeigt, mißt die eine der beiden Formen, *Euglena anabaena* var. *minor* n. var., 36—43 μ in der Länge, 9—12 μ in der Breite und hat durchschnittlich acht Chromatophoren. Die andere Form, *Euglena anabaena* var. *minima* n. var., ist 26—30 μ lang, 8—11 μ breit und führt 4—6 Chromatophoren (Taf. 10 Fig. 3 u. 4). Beide Varietäten zeigen ein ähnliches Verhalten wie die Hauptart, bilden Wasserblüten, in der Agarplatte kleine dichte Kolonien, in flüssigen Nährsubstraten viel schwärmende Zellen auf der Agaroberfläche, dichte dunkelgrüne Auflagerungen. Während die var. *minor* in alten Kulturen und auf der Agaroberfläche in palmelloiden Zuständen wächst, ganz abgerundet und mit Membran umgeben, nehmen die Zellen der var. *minima* nach Verlust der Geißel die Form einer kurzen breiten Spindel mit scharf abgesetzter Endspitze an, ohne eine Membran auszubilden. Die Varietäten *minor* und *minima* führen in jedem Chromatophor ein doppelt beschaltes Pyrenoid und wurden daher im Anfang als von der typischen *E. anabaena* verschiedene Arten angesehen, da ich in meiner ersten Untersuchung dieser Art (1926) keine Paramylonschalen an den Pyrenoiden feststellen konnte. Es zeigte sich jedoch bei neuerlichem Studium des lebenden Materials und der Präparate, daß diese Feststellung auf einer Täuschung be-

ruhte. Die damals untersuchten Kulturen, die ganz frische Impfungen darstellten, hatten infolge der raschen Vermehrung alle Reservestoffe aufgezehrt, und daher waren die Pyrenoide frei von Paramylonschalen. In alten Kulturen bildet auch die typische *E. anabaena* zwei mächtige Paramylonschalen an beiden Seiten des Pyrenoids aus. Die damalige Diagnose der Art ist in diesem Sinne richtig zu stellen.

8. *Euglena velata* KLEBS ist nicht selten, doch nie in größerer Menge zwischen anderen Flagellaten, speziell *Euglena sanguinea*, im „Musikantenteich“ bei Hirschberg zu beobachten, einem moorigen Gewässer. Sie wurde durch Plattenguß isoliert und bildet im Agar nur 2—4 zellige Kolonien. In Erdabkochung vermehrt sie sich langsam und nicht sehr stark, die Schwärmfähigkeit geht bald verloren und die Zellen nehmen breit eiförmige Formen mit kurzer Endspitze an, speichern sehr viel Paramylon und scheiden dünnen Schleim aus, jedoch keine Membran. Auf der Agaroberfläche gedeiht *E. velata* nicht.

9. *Euglena mucifera* MAINX (1926) bildete den Hauptanteil einer Euglenen-Trachelomonaden-Assoziation in Dorfteichen der Hirschberger Gegend und wurde durch Plattenguß isoliert. Im Agar runden sich die Zellen ab, teilen sich nur ein- bis zweimal und umgeben sich mit großen Schleimmassen. In Erdabkochung vermehrt sich *E. mucifera* recht gut, die schwärmenden Zellen tragen meist eine dicke Schleimhülle oder scheiden sie beim geringsten äußeren Reiz aus, in älteren Kulturen sinken die Zellen zu Boden, nehmen durch Aufspeicherung von sehr viel Paramylon teilweise ganz bizarre Formen an und scheiden große Mengen von dünnem Schleim aus, in dem sie eingebettet bleiben. Dabei können sie die nur noch träge bewegliche Geißel noch lange beibehalten. Auch richtige Dauerzellen mit geschichteten Membranen entstehen in alten Kulturen. Die absolute Reinkultur war mit einigen Schwierigkeiten verbunden, da an der Schleimhülle stets Bakterien festsitzen und das Wachstum im Agar so schlecht ist. Nach vielen vergeblichen Versuchen gelang es Schwärmer ohne Schleimhülle zum Plattenguß zu verwenden, diese gleich nach dem Sichtbarwerden der Bakterienkolonien aus dem Agar wieder herauszustechen und so von den Bakterien zu befreien. Auf der Agaroberfläche gedeiht *E. mucifera* nicht.

10. *Euglena oblonga* SCHMITZ ist der vorigen Art ähnlich und war auch vergesellschaftet mit ihr anzutreffen. Durch den Bau der Chromatophoren ist sie von ihr gut zu unterscheiden. Ihr Verhalten in der Kultur gleicht dem der *E. mucifera*. Die Spezies-Reinkultur

wurde nicht weiter gereinigt, aber in Erdabkochung mit Erfolg fortgeführt.

11. *Euglena viridis* EHRENB. ist der bekannteste Ubiquist der Gattung, bildet große Ansammlungen mit Vorliebe in Straßengraben, Dorfpfützen und Jauchengruben, kommt aber vereinzelt auch in reinen Gewässern in jeder Flagellatenassoziation vor. Die von FRANCÉ unterschiedenen Varietäten *lacustris* in größeren Wasseransammlungen und *stagnalis* in Pfützen sind höchstens physiologische Rassen und ihre Aufstellung nicht berechtigt, dagegen sind morphologisch wohl unterscheidbare Varietäten der Art von anderen Autoren beschrieben. Im ganzen habe ich 13 Stämme von *E. viridis* von verschiedenen Standorten durch Plattenguß in Speziesreinkultur gebracht, davon fünf Stämme in absolute Reinkultur, drei aus der Umgebung von Prag und zwei aus der Hirschberger Gegend. Diese Stämme zeigten alle kleine morphologische und physiologische Unterschiede, ohne daß die Abtrennung besonderer Varietäten berechtigt wäre. So schwankt z. B. die Körpergröße unter gleichen Kulturbedingungen zwischen den Extremen von ca. $39 \times 9 \mu$ bei einem Stamm aus einem austrocknenden Wassergraben und ca. $60 \times 17 \mu$ bei einem Stamm aus einem Dorftümpel. Die Körpergestalt ist bei manchen Stämmen nicht die typisch spindelförmige mit kurzer Endspitze, sondern mehr langcylindrisch und hinten allmählich verjüngt, auch die sternförmige Anordnung der Chromatophoren um den Mittelpunkt der Zelle ist nicht bei allen Stämmen so streng, wie es für die Art charakteristisch ist. Doch sind dies alles nur geringe, wenn auch bei den einzelnen Stämmen konstante Unterschiede. Dasselbe gilt von den Unterschieden im physiologischen Verhalten. So zeigen z. B. einige Stämme die Neigung, in Flüssigkeitskulturen in palmelloiden Verbänden zu wachsen, unter Bedingungen, unter denen andere Stämme lebhaft schwärmen. An dieser Stelle sei darauf hingewiesen, daß auch in neueren Florenwerken und Handbüchern noch immer die falsche Angabe eines sternförmigen Chromatophors für *E. viridis* enthalten ist. VAN GOOR (1925) und andere wiesen auf diesen Irrtum hin, und ich kann auf Grund zahlreicher Beobachtungen bestätigen, daß *E. viridis* nicht einen, sondern stets zahlreiche scheiben- bis bandförmige Chromatophoren besitzt, die sich um den durch den Paramylonherd bezeichneten Mittelpunkt der Zelle sternförmig anordnen, wobei die längeren Chromatophoren oberflächlich unter der Pellicula in die Richtung des Vorder- und Hinterendes verlaufen (Taf. 10 Fig. 5 u. 6). In den abgerundeten Zellen der palmelloiden Zustände kontrahieren sich

die Chromatophoren zu runden Scheiben, die regelmäßig unter der Zelloberfläche verteilt sind. In der Agarplatte bildet *E. viridis* ganz charakteristische linsenförmige Kolonien aus locker gelagerten abgerundeten und mit einer Schleimhülle umgebenen Zellen. In günstigen Nährlösungen zeigt sie sehr reichliche Vermehrung, einige Zeit nach der Impfung setzen sich die Schwärmer fest und vermehren sich im palmelloiden Zustand weiter, mit dünnen Membranen umgeben, die mehr oder weniger stark verschleimt sind. Doch auch Palmellen mit dicken geschichteten Membranen können gebildet werden, ebenso dickwandige Dauerzellen mit viel Hämochrom. Auf der Agaroberfläche bildet die Alge dicke hellgrüne Auflagerungen von zäher schleimiger Konsistenz. Manche Stämme neigen weniger zur Schleimbildung, und ihre Kolonien auf dem Agar sehen daher dichter und dunkler gefärbt aus.

12. *Euglena stellata* MAINX (1926), eine der *E. viridis* ähnliche Form, trat in einem Dorfteich bei Hirschberg mit anderen Euglenen vergesellschaftet auf und wurde durch Plattenguß isoliert. Sie bildet kleine linsenförmige Kolonien im Agar, wächst gut in Flüssigkeitskulturen in Schwärmer- und Palmellenstadien und bildet auf der Agaroberfläche dunkelgrüne dichte Auflagerungen.

13. *Euglena deses* EHRBG. (Taf. 10 Fig. 7) ist nach *E. viridis* die häufigste Art. Sie kommt meist mit ihr vergesellschaftet an schmutzigen, fäulnisreichen Standorten vor, eine besonders reiche Entwicklung erfährt sie aber, wenn das betreffende Gewässer schon ausgefault und im Austrocknen begriffen ist, so auf der Oberfläche von Flußschlamm, austrocknenden Straßenpfützen, Moorböden und ähnlichem. Sie bildet auf solchen Substraten grüne Überzüge aus geißellosen oder mit kurzer Geißel versehenen Zellen, die in lebhafter metabolischer Bewegung sind, ohne wie *E. viridis* Wasserblüten oder zusammenhängende palmelloide Lager zu bilden. Es wurden durch Plattenguß drei Stämme reinkultiviert, einer aus Hirschberg, einer aus der Umgebung von Prag und einer aus einem Straßengraben bei Spittal a. d. Drau (Kärnten). Im Agar wächst *E. deses* in ausgedehnten lockeren Kolonien; wenn dabei durch Sprünge oder kleine Hohlräume im Agar Ansammlungen von Kondenswasser entstehen, gehen die Zellen in ihnen sofort in metabolische Bewegung über, ebenso in 1 Proz. oder noch dünnerem Agar. In allen geeigneten Kulturflüssigkeiten zeigt die Euglene eine sehr reiche Vermehrung, die Zellen schwärmen zunächst, gehen dann in metabolische Bewegung über und erstarren endlich in alten Kulturen, in denen sie oft durch Speicherung großer Paramylonmengen bizarre Formen an-

nehmen (Textfig. 6), unter Ausscheidung von wenig Schleim, ohne jedoch unter normalen Umständen deutliche Membranen oder pallemoide Verbände zu bilden. Nur in sehr alten Kulturen sieht man bisweilen Dauerzellen mit einer dünnen Membran. Auf der Agaroberfläche bildet *E. deses* viele kleine flache Häufchen mit unregelmäßigen Konturen und feuchter Oberfläche. LEMMERMANN (1913) gibt als Körpermasse für *E. deses* $85-155 \times 15-22 \mu$ an, während die Masse meiner Stämme, die in der Größe etwas differierten, sich zwischen 56 und 72μ resp. 8 und 13μ bewegten. Es scheinen also bei dieser Art mindestens zwei in der Größe ziemlich stark verschiedene Varietäten zu existieren. Vielleicht handelt es sich aber nur um Verwechslungen mit der viel größeren *E. intermedia* (KLEBS) SCHMITZ. KLEBS (1881) gibt an, daß *E. deses* in jedem Chromatophor ein unbeschaltetes Pyrenoid führt, SCHMITZ (1884) und HUEBNER (1886) weisen auf die undeutliche Ausbildung dieser Pyrenoide hin und vertreten die Ansicht, daß sie nur Rudimente von in Rückbildung begriffenen Pyrenoiden und oft überhaupt nicht mehr sichtbar sind. Ich kann letzteres nur bestätigen, obwohl ich nicht die Ansicht teilen kann, daß sich hier Standortsvarietäten verschieden verhalten und sich alle Übergänge zu der pyrenoidfreien *E. intermedia* vorfinden. HUEBNER wenigstens scheint hier sicher *E. deses* und *E. intermedia* durcheinandergebracht zu haben, die sich, wie SCHMITZ richtig erkannte, als selbständige Art von *E. deses* wohl unterscheiden läßt. In den Chromatophoren der kultivierten *E. deses* bemerkt man nur bei frischen Impfungen eine dichtere zentrale Partie, die als rudimentäres Pyrenoid angesprochen werden kann, sich jedoch auch mit spezifischen Farbstoffen nicht distinkt anfärben läßt, sondern nur der Mittelpartie des Chromatophoren einen dunkleren Farbton gibt. In älteren Kulturen ist dieses rudimentäre Pyrenoid überhaupt nicht mehr sichtbar, auch durch Färbung nicht darstellbar. Das Vorhandensein oder Nichtvorhandensein dieser „Pyrenoide“ kann also nicht zur Charakteristik der Art beitragen, sondern hängt lediglich vom physiologischen Zustand der Zelle ab. Dagegen sind die beiden frei im Plasma liegenden Paramylonherde für die Art charakteristisch, die man jedoch nicht als den Pyrenoiden homologe Gebilde betrachten darf. Fast immer ist der eine vor, der andere hinter dem Kern gelagert, nur in Ausnahmefällen kommt es vor, daß beide vor oder beide hinter dem Kern liegen. Um die Paramylonherde bilden sich in unregelmäßiger Anordnung die seifenstückförmigen Paramylonkörner, während bei *E. intermedia* Pyrenoide und

Paramylonherde vollständig fehlen und frei im Plasma die wenigen sehr großen langstabförmigen Paramylonkörner gebildet werden.

14. *Euglena intermedia* (KLEBS) SCHMITZ (Taf. 10 Fig. 9 u. 10) unterscheidet sich von der vorigen außerdem durch die viel größeren Körpermaße, bei meinem Stamm $107-164 \times 8-26 \mu$. Der Kern ist nicht wie bei *E. deses* stets in der Mitte, sondern in verschiedenen Teilen des Körpers gelagert. Die Geißel wird als kurz angegeben und in diesem Zustand, oft auch ganz geißellos, findet man auch die Alge in der Natur, wo sie Straßenpfützen ohne faulende organische Substanzen bevorzugt, in größeren Ansammlungen aber auch über Moorböden oder in austrocknenden Walddümpeln auftritt. Sie bewegt sich in diesem Zustand durch sehr lebhaft konvulsivische Metabolie, die den Körper in die merkwürdigsten Formen bringt. Dabei heftet sie sich mit der schleimausscheidenden Endspitze am Substrat fest. In der Kultur wird dagegen in frischen Impfungen, besonders wenn die Euglene durch vorübergehende Verdunkelung zu lebhaftem Schwärmen angeregt wird, eine mehr als körperlange Geißel ausgebildet, mit der sich die Zellen lebhaft beweglich erhalten. *E. intermedia* wurde aus einem Graben der Hirschberger Gegend isoliert, indem einzelne Zellen unter dem Binokularmikroskop mit einer feinen Pipette herausgefangen, einigemal durch steriles Wasser geführt und auf die Oberfläche eines Agars mit anorganischen Salzen aufgelegt wurden. Die Zellen kontrahierten sich auf dem Agar zu einer kurzen breiten Spindelform und machten einige Teilungen durch, worauf sie in Erdabkochung gebracht wurden, in der sie sich reichlich vermehrten. Durch Herausfangen einzelner Zellen und wiederholte Spülungen mit sterilem Wasser gelang es auch, die Kultur bakterienfrei zu machen. Übrigens eignet sich zur Isolierung von *E. intermedia* auch die Plattengußmethode. Im Agar bildet sie dabei wenigzellige Kolonien aus spindelförmig kontrahierten Zellen mit träger metabolischer Beweglichkeit. In ganz jungen Kulturen schwärmt die Euglene kurze Zeit, um dann die Geißel ganz zu verlieren und in starke metabolische Bewegung überzugehen. Noch sehr alte Kulturen enthalten zahlreiche lebhaft bewegliche Zellen, neben spindelförmig kontrahierten, die im Absterben begriffen sind. Das Paramylon wird in Form weniger, großer, stabförmiger Körner abgelagert, in älteren Kulturen treten außerdem zahlreiche kleine stabförmige Körner auf. Schleim oder Membranen werden nicht gebildet. Auf der Agraroberfläche kommt *E. intermedia* nicht fort.

15. *Euglena Klebsii* (LEMM.) nov. comb. (= *E. intermedia* var. *Klebsii* LEMM.) (Taf. 10 Fig. 8). Die Berechtigung zur Abtrennung dieser Art von *E. intermedia* ergibt sich aus mehreren grundlegenden morphologischen Unterschieden. So ist die Körpergröße dieser Form 76—99 μ in der Länge, 6—9 μ in der Breite (nach LEMMERMANN 78—80 \times 7—8 μ), die Gestalt noch schlanker und hinten schärfer zugespitzt als bei *E. intermedia*. Es kommen niemals große stabförmige Paramylonkörner vor, sondern nur kleine seifenstückförmige. Außerdem ist in frischen Impfungen in jedem Chromatophor ein unbeschaltetes Pyrenoid sichtbar, das stärker hervortritt als die entsprechenden Bildungen bei *E. deses*, jedoch auch nicht distinkt färbbar ist. In älteren Kulturen ist es weder im lebenden noch gefärbten Zustand sichtbar, wir haben es auch hier wahrscheinlich mit einem in Rückbildung begriffenen Pyrenoid zu tun. Die Chromatophoren selbst sind nicht runde Scheiben wie bei *E. intermedia*, sondern mehr langgestreckt und unregelmäßig gelappt. Endlich sind auch in der Lebensweise und im Verhalten in Kultur Unterschiede zwischen beiden Arten vorhanden. *E. Klebsii* kommt sehr häufig vereinzelt zwischen anderen Flagellaten sowohl in stark faulenden, als auch in reinen Gewässern vor, massenhafte Ansammlungen bildet sie aber mit Vorliebe auf sauren Moorböden, auf der feuchten Oberfläche austrocknender Nadelwaldtümpel und an ähnlichen Standorten. Ihre Vorliebe für saure Reaktion des Substrates bringt es mit sich, daß sie oft fast ohne Beimengung anderer Organismen auftritt, die alle durch die saure Reaktion in der Entwicklung gehemmt werden. Sie ist meist nur mit einer kurzen Geißel oder ohne Geißel zu finden und in lebhafter metabolischer Bewegung, wobei der Körper wurmartig gekrümmt oder bandförmig abgeflacht wird und das Hinterende als Stützpunkt auf dem Substrat gebraucht wird. In ganz jungen Kulturen bildet sie jedoch auch eine körperlange Geißel aus, mit der sie lebhaft schwärmt. Zwei Stämme aus der Umgebung von Hirschberg wurden durch Plattenguß isoliert. Im Agar bildet *E. Klebsii* lockere Häufchen von metabolisch beweglichen Zellen, deren Bewegungsintensität von der Konzentration des Agars abhängt. In 1½ Proz. Agar, wie er meist zu den Plattengüssen verwendet wurde, kriecht die Euglene lebhaft herum und sammelt sich mit Vorliebe in der Flüssigkeitsschicht zwischen Agar und Petrischalenboden an, ebenso in mit Kondenswasser erfüllten Lücken im Agar. Wenn zufällig Pilze im Agar wachsen, so erfüllen die Euglenen die durch das Wachstum der Mycelfäden im Agar gebildeten Kanäle. In geeigneten Nährlösungen zeigt *E. Klebsii* sehr reichliche Ver-

mehrung und bildet einen dicken Bodensatz aus metabolisch beweglichen Zellen. Erst in sehr alten Kulturen stellt sie die Bewegung ein und erstarrt in durch die Paramylonbildung bedingten bizarren Formen oder in einem spindelförmig kontrahierten Zustand. Schleim oder Membranen werden nicht ausgeschieden. Auf der Agaroberfläche wächst die Alge in dünnen glänzenden Auflagerungen mit unregelmäßigen Konturen, die sich infolge der Beweglichkeit der Zellen rasch über die Fläche ausbreiten.

16. *Euglena rubida* nov. spec. (Textfig. 7). Diese Art wurde ganz vereinzelt zwischen *E. deses* in sandigen Pfützen über Waldboden am Ufer des Hirschberger Großteiches gefunden und durch Herausfangen einzelner Individuen und Übertragung in Erdabkochung in Speziesreinkultur gebracht. Sie vermehrt sich in der Kultur sehr schlecht und langsam, bleibt lange im schwärmenden Zustand und rundet sich dann unter Ausscheidung von Schleim ab. Sie ist ziemlich empfindlich und gedeiht nicht in der Agarplatte oder auf dem Agar. Die absolute Reinzüchtung gelang nicht.

E. rubida hat eine spindelförmige Gestalt, mit stumpfer Endspitze, vorn breit abgestumpft, die Länge beträgt 95—110 μ , die Breite 40—45 μ , der Durchmesser der abgerundeten Zellen ca. 70 μ . Die Geißel ist $1\frac{1}{2}$ —2 mal körperläng, wird aber beim geringsten Reiz abgeworfen, worauf sich die Euglene unter metabolischen Kontraktionen und durch Schleimausscheidung weiterbewegt. Am Reservoir liegen ein großer roter Augenfleck und die pulsierenden Vakuolen. Auf der

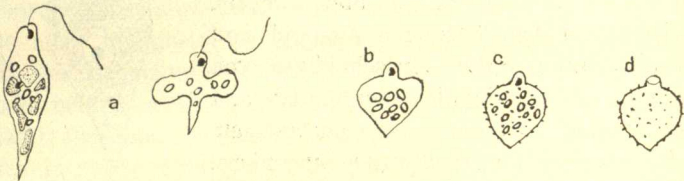


Textfig. 7. *Euglena rubida* nov. spec. Die Chromatophoren sind nur im vorderen und im letzten Körperabschnitt gezeichnet, die Hämochromkörnerchen nur in den Partien um den Kern, die Paramylonkörner sind ganz fortgelassen.

Oberfläche der Pellicula verläuft eine feine Spiralstreifung. Die sehr zahlreichen kleinen Chromatophoren in Form kurzer Bandstücke sind knapp unter der Körperoberfläche gelagert und streng entlang der Spiralstreifung angeordnet. Pyrenoide sind nicht vorhanden. Zahlreiche kleine Hämochromtröpfchen sind je nach den Belichtungsverhältnissen in der Mitte des Körpers oder an dessen Oberfläche angesammelt und verleihen der Zelle ein rötliches Aussehen. Der große Kern liegt in der hinteren Körperhälfte. Zahlreiche runde bis ellipsoide Paramylonkörner sind über die inneren Partien des ganzen Körpers verteilt. Teilung wurde in metabolischer Bewegung

beobachtet. Von *E. sanguinea* EHRENB. unterscheidet sich die neue Art vor allem durch den Bau der Chromatophoren und das Fehlen der Pyrenoide, von *E. haematodes* (EHRENB.) LEMM. außerdem durch den Besitz des Augenflecks, von *E. rubra* HARDY durch die Körpermasse. Übrigens ist die Diagnose der letzteren Art so unvollständig, daß sich weitere Vergleiche nicht ziehen lassen.

17. *Euglena chlamydophora* nov. spec. (Textfig. 8 a—d) wurde in ziemlicher Dichte in einem Dorfteich der Umgebung von Prag zwischen *E. tripteris* und Chlamydomonaden gefunden und durch Plattenguß in Speziesreinkultur gebracht. Sie vermehrt sich in Erdabkochung gut. Leider ging die Kultur durch ein Versehen verloren. Die neue Art zeigt im schwärmenden Zustand eine Spindelform mit langer Endspitze, ist durchschnittlich 45μ lang und 9μ breit, trägt eine körperlange Geißel und führt beim



Textfig. 8. *Euglena chlamydophora* nov. spec. a Im schwärmenden Zustand. b Kontrahiert, nur mehr das Vorderende ist metabolisch. c Dauerzelle mit skulpturierter Hülle. d Die Hülle nach dem Ausschlüpfen der Euglene. Die Figuren a—c veranschaulichen den Entwicklungsgang in einer alternden Kultur in Erdabkochung.

Schwärmen stets sehr energische metabolische Bewegungen aus. Eine Zeit nach der Impfung der Kultur verlieren die Euglenen die Geißel und sinken zu Boden, wobei sie durch Kontraktion eine kurze konische Form annehmen. Die Bewegung beschränkt sich in diesem Stadium auf ein regelmäßiges Ausstrecken und Einziehen des Vorderendes. Dabei scheidet die Euglene um den Körper beim Hinterende beginnend eine dünne aber feste Membran aus, die gegen das Vorderende vorwachsend dieses endlich ganz umschließt. Um das Vorderende selbst wird dabei eine kleine scharf abgesetzte Kappe gebildet. Die Außenseite der Membran zeigt eine feine körnige Skulptur. Nach Überführung in neue Nährlösung springt die Membrankappe ab und die Euglene schlüpft durch das so entstandene Loch unter Ausbildung der Geißel wieder aus. Außer diesem beschalteten Dauerzustand werden in alten Kulturen jedoch auch runde Cysten mit dicker geschichteter Membran gebildet. Durch die eigenartige Ausbildung einer skulpturierten Schale von bestimmter

Form unterscheidet sich die neue Art von allen anderen Euglenenarten und erinnert an die verwandten Gattungen *Ascoglena* und *Trachelomonas*. Im schwärmenden Zustand gleicht sie vollkommen einer typischen Euglene, zeigt eine feine Pellicularstreifung, hat mehrere ungleich große scheibenförmige Chromatophoren, keine Pyrenoide und zahlreiche kleine runde bis ellipsoide Paramylonkörner.

18. *Phacus pleuronectes* (O. F. M.) DUJ. (Taf. 10 Fig. 14) findet sich oft vereinzelt oder in größerer Menge im Plankton von Dorfteichen, doch auch in reineren Gewässern, auch in kleineren vorübergehenden Straßenpfützen bildet er oft massenhafte Ansammlungen. Da in der Agarplatte keine Vermehrung zu erzielen war, wurde er durch Herausfangen mit der Pipette, Waschen in sterilem Wasser und Übertragung in Erdabkochung isoliert, wo er sich langsam aber in genügender Menge vermehrt. Mit der gleichen Methode gelang die Ausschaltung von Bakterien. *Phacus pleuronectes* bleibt in Kultur lange im schwärmenden Zustand und scheidet dabei einen dünnen Schleim aus, so daß die durch Phototaxis bewirkte Ansammlung eine lose zusammenhängende Masse darstellt. In alten Kulturen geht die Geißel verloren, so daß die Zellen bewegungslos am Boden liegen. Die Ausbildung von Dauerzellen wurde nicht beobachtet. Die alten Zellen bilden ohne ihre Form zu verändern außer den stets vorhandenen ein bis zwei großen runden noch viele kleinere Paramylonkörner aus.

19. *Phacus parvula* KLEBS (?) (Taf. 10 Fig. 18) wurde durch Platten-
guß aus einem Graben der Hirschberger Gegend isoliert. Im Agar bildet er ganz kleine dichte Kolonien und zeigt in Erdabkochung gute Vermehrung. Die absolute Reinigung der Kultur gelang nicht, daher wurden auch mit ihr keine weiteren Versuche angestellt.

20. *Colacium vesiculosum* EHRENB. (= *Euglena cyclopicola* GICKLH.) (Taf. 10 Fig. 12) trat durch längere Zeit in einem Tümpel bei Prag an verschiedenen *Cyclops*-Arten auf und wurde mir von Herrn Dr. J. GICKLHORN in liebenswürdiger Weise zur Verfügung gestellt, der (1925) eingehendere Untersuchungen über diese Art angestellt hat und sie unter dem Namen *Euglena cyclopicola* als neue Art beschreibt. Bei näherer Untersuchung des Stammes in meinen Kulturen zeigte es sich, daß ein typisches *Colacium vesiculosum* EHRENB. vorliegt und die Aufstellung der neuen Art nicht berechtigt erscheint. GICKLHORN hat offenbar das Vorhandensein der beschalteten Pyrenoide in jedem Chromatophor und die feine Spiralstreifung der Pellicula übersehen. In Paramylon-freiem Zustand sind allerdings die Pyrenoide

ungefärbt fast nicht wahrnehmbar. Die Colacien sitzen in der Natur in großer Menge mit dem Vorderende — wie es für die Gattung charakteristisch ist — auf der Oberfläche der Chitinpanzer von Copepoden, wobei sie die gegen Wasserströmungen mehr geschützten eingesenkten Grenzlinien zwischen den Segmenten bevorzugen. GICKLHORN beobachtete, daß sie den *Cyclops* bald unter metabolischen Bewegungen und Ausbildung der Geißel verlassen, wenn dessen Bewegungen durch Einklemmung unter dem Deckglas gehemmt sind. Diese Eigenschaft wurde von mir zur Erzielung der Kultur ausgenützt, indem eine Anzahl von *Colacium*-tragenden Cyclopiden in einem Röhrchen, das mit Müllergaze abgeschlossen war, aufgefangen und durch Abfließen des Wassers auf der Gazeoberfläche festgehalten wurden. Nach einiger Zeit sind genügend Colacien von ihren Wirtstieren abgelöst, um mit einer Aufschwemmung einen Plattenguß machen zu können. Sie bilden in der Platte dichte dunkelgrüne Kolonien und vermehren sich in den üblichen Nährlösungen reichlich. Nach einer Periode des Schwärmens setzen sie sich an den Wänden des Kulturgefäßes fest und zwar wieder stets mit dem Vorderende unter Abwerfung und Verquellung der Geißel und Ausbildung einer gallertigen Haftscheibe. Sie vermehren sich in diesem Zustand reichlich durch Teilung und bilden dabei die gleichen charakteristischen Kolonieförmigkeiten wie auf den Copepoden. Ein anderer Stamm, der in allen Eigenschaften mit dem ersten übereinstimmte, wurde aus einem mit Zuchtkarpfen besetzten Aquarium der Hirschberger Forschungsstation isoliert. Die Befreiung von Bakterien erfolgte durch weitere Plattengüsse. In alten Kulturen werden runde Dauerzellen mit dicken Membranen gebildet. Auf der Agaroberfläche wächst *Colacium vesiculosum* in kleinen flachen Häufchen mit glänzender Oberfläche. Auf die Frage der Symbiose mit *Cyclops* soll später eingegangen werden.

21. *Astasia ocellata* KHAWKINE tritt an Orten mit faulenden pflanzlichen Resten auf, mit Vorliebe in faulenden Algenmassen. Eine Speziesreinkultur wurde mir von Herrn Prof. E. PRINGSHEIM zur Verfügung gestellt. In den von PRINGSHEIM (1921) angegebenen Erdkäse-Kulturen läßt sich die Speziesreinkultur leicht weiterzüchten, wobei die Astasien bei Verhütung der Austrocknung bis zwei Jahre lang ohne Umimpfung lebend und im schwärmenden Zustand bleiben. Die Befreiung von Bakterien gelang durch Plattenguß in Fleischextraktagar, in dem die Astasien sich abrunden und ein bis zweimal teilen, um dann zugrunde zu gehen. Bald nach dem Plattenguß wurden an bakterienfreien Stellen die kleinen

Gruppen der Astasien herausgestochen und in 2 Proz. Fleischextrakt mit Zusatz von $\frac{1}{200}$ n Essigsäure übertragen. Nach einigen Mißerfolgen gelang auf diese Weise die absolute Reinigung der Kultur, die dann in der angegebenen Lösung oder in 2 Proz. Erepton weitergezüchtet wurde. Auf der Agar- oder Gelatineoberfläche gedeiht *Astasia* nicht. In den Kulturen bleibt sie lange im schwärmenden Zustand, um dann unter Verlust der Geißel zu Boden zu sinken, wo sie sich metabolisch weiterbewegt und endlich in verschiedenen Formen der Metabolie erstarrt oder runde Dauerzellen mit dicker Membran bildet. Schleimausscheidung ist nicht zu beobachten. Charakteristisch ist bei den schwärmenden Individuen eine in gleichen Zeitabständen beim Hinterende beginnende und über den Körper verlaufende metabolische Bewegungswelle. Große Anhäufungen von Paramylon und Ausbildung von Hämochrommassen, wie sie bei Euglenen stets in alten Kulturen zu beobachten sind, finden bei *Astasia* nicht statt. Der rote Augenfleck ist stets vorhanden und ist oft in den Kulturen mit 2 Proz. Fleischextrakt oder Erepton durch eine auffallend starke Längsstreckung des Körpers bis in das zweite Körperviertel zurückverlagert. Die Pellicula zeigt keine Spiralstreifung.

22. *Astasia Dangeardii* LEMM. (Taf. 10 Fig. 13) wurde in einem Nadelwaldtümpel der Umgebung von Prag gefunden, durch Anhäufung in Erdekäse-Röhrchen und Isolierung mit der Pipette in Speziesreinkultur gebracht. Die absolute Reinigung gelang nicht.

23. *Menoidium incurvum* (FRES.) KLEBS trat in einer faulenden Algenprobe aus dem Heideteich bei Hirschberg auf und wurde durch Herausfangen mit der Pipette und Übertragung in Erdekäse-Röhrchen isoliert, wo es sich reichlich und durch lange Zeit vermehrt und lange im schwärmenden Zustand bleibt. Die Eliminierung der Bakterien gelang weder durch Herausfangen und Waschen einzelner Individuen noch durch Plattenguß. *Menoidium incurvum* hat keinen Augenfleck und auch im Körper niemals Hämochrom. Es erscheint daher auch in größerer Menge stets ganz weiß. Bei Betrachtung mit schwächeren Vergrößerungen ist ein eigentümlicher grüner Farbton des ganzen Körpers zu beobachten, der jedoch nur eine Lichtbeugungserscheinung darstellen kann, da er bei Betrachtung mit Immersionssystemen nicht zu sehen ist, und da sich auch keine Farbstoffe aus der Zelle extrahieren lassen. In schwächerem Maße zeigt auch *Astasia* diese grünliche Scheinfarbe. Diese Erscheinung hat verschiedene ältere Autoren, aber auch in neuerer Zeit HALL (1923) irreführt. Er sagt, daß die Paramylonkörner von *Menoidium*, die

er übrigens fälschlich als „plastids“ bezeichnet, farblos bis schwach grün erscheinen. Plastiden oder deren Farbstoffe sind jedoch weder bei *Astasia* noch bei *Menoidium* vorhanden.

Vergebliche Kulturversuche.

Euglena sanguinea EHRBG. wurde wiederholt im Musikantenteich bei Hirschberg beobachtet, wo sie in manchen Jahren eine sehr reiche Wasserblüte bildet. Der Musikantenteich stellt eine Grundwasseransammlung dar, die wahrscheinlich einmal Hochmoorcharakter gehabt hat und dann durch Senkung des Grundwasserspiegels in eine nasse Wiese verwandelt wurde. Vor wenigen Jahrzehnten wurde durch Anziehung benachbarter Teiche der Grundwasserspiegel wieder gehoben und die Wasseransammlung durch Anlegung eines Systems von Gräben zu einem Karpfenzuchtgewässer umgewandelt. Einer dieser Gräben steht mit den anderen nicht in Kommunikation, ist mit Sphagnum bewachsen und zeigt in trockenen Sommern eine für Moorwässer typische Algenflora. Bei Regen fließt das Wasser von einer benachbarten Straße in den Graben, worauf sofort die typischen Moorformen, wie *Eremosphaera* und gewisse Desmidiaceen verschwinden und gewöhnlichen Ubiquisten Platz machen. In trockenen Sommern dagegen tritt *E. sanguinea* in großen Mengen auf und bildet die charakteristischen roten Häute. Da sie durch den ständigen Besitz von Hämochrom und dessen eigentümliches Verhalten gegen Belichtungsunterschiede interessante Versuchsergebnisse verspricht, wurde wiederholt versucht, die Reinkultur zu erzielen, doch vergeblich. Auch REICHENOW's Kulturversuche waren erfolglos (1909). Allerdings hat er größtenteils ungeeignete, viel zu hoch konzentrierte Nährlösungen mit viel organischer Substanz verwendet. Ich versuchte durch Plattenguß die Isolierung und erzielte auch in der Agarplatte die Bildung wenigzelliger Kolonien. Nach ihrer Übertragung in Erdabkochung bildete sich eine kleine Menge von schwärmenden Zellen, die jedoch bald zugrunde gingen und deren Übertragung in neue Nährlösung zu keiner Vermehrung führte. Auch einzeln herausgefangene Individuen zeigten in Erdabkochung und synthetischen Nährlösungen der verschiedensten Zusammensetzung und Konzentration keine Vermehrung. Auch Torfextrakt in verschiedenen Konzentrationen ergab kein Resultat. Einzelne Zellen auf die Agaroberfläche aufgelegt, starben bald ab. Dabei wurde die Wasserstoffionenkonzentration der Nährlösungen, die im Standortswasser $P_H = 6,2-6,6$ beträgt, bei den meisten Versuchen genau auf denselben

Betrag gebracht, auf die günstigsten Lichtverhältnisse und die größte Reinlichkeit Rücksicht genommen. Eine direkte Schädigung durch irgendwelche Stoffe der Nährlösung ist unwahrscheinlich, da in Erdabkochung schwärmende Zellen gebildet werden, was stets ein Zeichen für das Wohlbefinden der Euglenen ist. Daß irgendwelche lebenswichtige Stoffe in den Nährlösungen fehlen sollten, ist auch kaum anzunehmen. Die noch am meisten befriedigende Erklärung für die Mißerfolge besteht in der Annahme, daß *E. sanguinea* als Bewohnerin ausgeglichener Moorgewässer sehr empfindlich gegen Schwankungen der Wasserstoffionenkonzentration ist und daher die geringsten Veränderungen dieses Faktors durch das Wachstum der Euglenen in der Kulturflüssigkeit schon eine Hemmung für weitere Entwicklung darstellen. Die Überführung in neue Nährlösung kann dabei natürlich nicht helfen, da sie wieder eine plötzliche Veränderung der Wasserstoffionenkonzentration des Milieus bedeutet. In den großen Wasseransammlungen, die *E. sanguinea* in der Natur bewohnt, kommt es natürlich niemals zu so raschen Veränderungen der Reaktion. Nach Mitteilungen von Herrn Dr. V. CZURDA stellen sich ähnliche Schwierigkeiten der Kultur von moorbewohnenden Konjugaten, wie *Cylindrocystis*-, *Micrasterias*- und *Staurastrum*-Arten entgegen. Dagegen sind andere Moorbewohner, wie z. B. *Eremosphaera viridis*, nicht so empfindlich gegen P_H -Schwankungen und lassen sich leicht kultivieren (MAINX 1927). Worauf die Unterschiede im Verhalten dieser Formen beruhen, muß vorderhand eine offene Frage bleiben.

Euglena purpurea MAINX (1926) kommt vereinzelt im Musikanten-
teich bei Hirschberg vor und verhält sich gegen Kulturversuche ebenso ablehnend wie *E. sanguinea*. In der Agarplatte runden sich die Zellen ab und umgeben sich mit einer schleimigen Membran ohne sich zu teilen. Durch Einzelfang isoliert leben sie eine Zeitlang nur in Erd- oder Torfabkochung, um dann ohne Vermehrung abzusterben.

Euglena oxyuris SCHMARDA, die auch im Plankton des Musikanten-
teiches fast immer zu finden ist, erwies sich ebenfalls zur Kultur als ganz ungeeignet. Die Agarmethode ist bei den starren Euglenenformen überhaupt ganz aussichtslos, da diese nicht imstande sind, sich im Agar abzurunden oder zu teilen, sondern ohne Veränderung ihrer Körperform unter Anhäufung von großen Paramylonmengen bald eingehen. Auch einzeln herausgefangene Individuen konnten in den verschiedensten Lösungen nicht zur Vermehrung gebracht werden.

Euglena acus EHRBG. und *Euglena tripteris* (DUJ.) KLEBS, beides ebenfalls Arten mit starrer Körperform, wurden vergeblich zu kulti-

vieren versucht. Dies entsprach besonders bei der letzteren Art nicht den Erwartungen, da sie in einem ziemlich stark verschmutzten Dorfteich in größerer Menge gefunden wurde und daher gegen Schwankungen in der Zusammensetzung und Reaktion der Nährlösung nicht empfindlich zu sein scheint. Es ist auffallend, daß bei keiner einzigen starren Euglene die Kultur gelang.

Euglena Ehrenbergii KLEBS und *Euglena spirogyra* EHREBG. wurden wiederholt in Gräben der Umgebung von Hirschberg, oft zusammen mit *E. deses* und *E. viridis*, gefunden und durch Plattenguß und Einzelfang zu isolieren versucht. *E. Ehrenbergii* stellt im Agar ihre lebhaften metabolischen Bewegungen ein und kontrahiert sich kugelig, während *E. spirogyra* sich zu einer kurzen Spindelform zusammenzieht. Sie teilen sich im Agar ein- bis zweimal und sterben bald unter Aufspeicherung von viel Paramylon. Impfungen aus den Platten und einzeln isolierte Zellen sind in keiner der üblichen Nährlösungen zur Vermehrung zu bringen, was um so merkwürdiger ist, als die beiden Arten in der Natur auch in stark verschmutzten Gewässern zu finden sind. Es ergibt sich hier eine schon bei anderen Algengruppen beobachtete Regel, daß die großen Arten sich nicht in künstlicher Kultur halten lassen.

Zahlreiche Kulturversuche wurden auch mit mehreren *Trachelomonas*-Arten, ferner mit *Lepocinclis texta* und einigen anderen *Lepocinclis*-Arten angestellt. In der Agarplatte teilen sich diese Eugleninen nicht, auch die Übertragung einzelner Zellen in verschiedene Nährlösungen war ganz ergebnislos. Die geringe Empfindlichkeit gegen Schwankungen der Außenbedingungen, die viele der untersuchten Arten an ihrem natürlichen Standort zeigen, stimmt hier wieder nicht recht mit ihrem Verhalten bei den Kulturversuchen überein. Ebenfalls ohne Erfolg waren die Versuche verschiedene Peranemaceen zu isolieren. Endlich sei noch erwähnt, daß trotz der vergeblichen Versuche PRINGSHEIM'S (1921), *Chilomonas paramaecium* von Bakterien vollständig zu befreien, dessen absolute Reinigung wieder versucht wurde. Beim Plattenguß platzen sämtliche Zellen und auch Ausstriche auf der Agaroberfläche zeigen fast nur geplatze Zellen, ebenso werden sie beim Durchführen durch steriles Wasser mit der Pipette sehr leicht mechanisch geschädigt. Durch diese große Empfindlichkeit ist die Anwendung aller mechanischen Methoden ganz ergebnislos. Anreicherungsverfahren führten zu ähnlichen Resultaten, wie in der Arbeit PRINGSHEIM'S, ohne daß ein weiterer Ausbau seiner Ergebnisse möglich gewesen wäre.

V. Bemerkungen zum System der Eugleninen.

Innerhalb der formenreichen Gattung *Euglena* lassen sich einige Gruppen von Arten bilden, die durch den Besitz gemeinsamer charakteristischer Merkmale nahe verwandtschaftliche Beziehungen zu haben scheinen. Ebenso lassen sich einzelne Arten oder Artengruppen auffinden, deren Typus gewisse Ähnlichkeit mit den Gattungen *Colacium*, *Lepocinclis*, *Phacus*, *Trachelomonas*, *Ascoglena*, *Cryptoglena*, sowie den farblosen Gattungen *Astasia* und *Menoidium* zeigen.

ELENKIN (1924) hat versucht, auf Grund dieser Tatsachen ein System der Euglenen aufzustellen. Er sieht die großen starren Euglenenarten als die höchstentwickelten Formen an, was wohl allgemein anerkannt werden dürfte, und faßt sie unter dem Gruppennamen „*Rigidae*“ zusammen. Diese Gruppe zeigt Beziehungen zu den ebenfalls starren Gattungen *Lepocinclis* und *Phacus*. Die Euglenen mit mäßiger metabolischer Beweglichkeit und Geißel, wie *E. viridis*, *E. deses* usw. bezeichnet er als „*Intermediae*“, da sie eine vermittelnde Stellung zwischen den *Rigidae* und der anderen extremen Gruppe der „*Amastigatae*“ einnehmen, die sich durch sehr starke metabolische Beweglichkeit auszeichnen und geißellos sind. Zu dieser Gruppe rechnet er *E. mutabilis* SCHMITZ, *E. obtusa* SCHMITZ, *E. Elenkinii* POLJANSKI und *E. fenestrata* ELENKIN. Diese letzte Art scheint übrigens mit der von GARD (1922) beschriebenen *E. limosa* sehr nah verwandt, wenn nicht identisch zu sein. Die *Amastigatae* sollen nach ELENKIN obligat ohne Geißel leben. Er neigt dazu, diesen Mangel der Geißel als primitives Merkmal aufzufassen, obwohl er die Möglichkeit, daß es sich um eine Reduktionserscheinung handelt, nicht in Abrede stellt. Ich glaube, daß man ohne genaue Untersuchung der genannten Arten unter verschiedenen Kulturbedingungen nicht von einer obligaten Geißellosigkeit sprechen kann, denn auch *E. intermedia* und *E. Klebsii* findet man in der Natur meist ohne Geißel und es wird für sie nur das gelegentliche Vorhandensein einer kurzen Geißel angegeben. Trotzdem bilden beide Arten in der Kultur und zwar nicht unter abnormen, sondern gerade nur unter sehr günstigen Kulturbedingungen eine mächtige lange Geißel aus. Man kann den Mangel der Geißel wohl nur als Reduktionserscheinung auffassen, auch wenn es sich ergeben sollte, daß die von ELENKIN genannten Formen zur Geißelbildung überhaupt nicht befähigt sind. Mit der Geißel steht ja bei den Euglenen, wie auf S. 312 ff. ausführlich erörtert wurde, ein komplizierter Parabasalapparat in Verbindung, der durch seine Beziehungen zur Kern- und Zellteilung einen wesentlichen

Bestandteil ihrer Organisation ausmacht. Daß dieser bei den „amastigaten“ Arten einfach fehlen sollte, ist bei ihrer sonstigen Ähnlichkeit mit den anderen Arten wohl sehr unwahrscheinlich. Dieses müßte aber der Fall sein, wenn der Mangel der Geißel bei ihnen wirklich ein primitives Merkmal wäre. Es ist vielmehr wohl nur die Ausbildung des Flagellums selbst bei ihnen ausgefallen. Cytologische Untersuchungen dieser Arten wären von diesem Standpunkt aus von Interesse. Die metabolische Beweglichkeit der „*Amastigatae*“ als primitives Merkmal auszuwerten, erscheint mir nicht berechtigt, da sie in der gleichen Intensität ja auch bei geißeltragenden Formen, wie *E. Klebsii*, vorkommt. Damit werden wohl auch die Einwände hinfällig, die ELENKIN auf Grund seiner Beobachtungen an Euglenen gegen PASCHER'S Ansichten von der Phylogenie der Algen erhebt.

Ich stimme darin mit ELENKIN überein, den Besitz von beschalteten Pyrenoiden in den Chromatophoren als primitives Merkmal aufzufassen. Bei den hochentwickelten Rigidae sind die Pyrenoide auch durchwegs verschwunden und zahlreiche kleine scheibenförmige pyrenoidfreie Chromatophoren vorhanden. Bei manchen Formen, wie *E. deses*, *E. Klebsii* und vielleicht auch *E. Ehrenbergii* lassen sich, wie schon erwähnt, oft unbeschaltete Pyrenoide nachweisen, die ganz den Charakter von in Reduktion begriffenen Organellen haben. Die großen lamellenförmigen, nur in der Ein- oder Zweizahl vorhandenen Chromatophoren einiger Euglenen möchte ich nicht, wie ELENKIN, als primitiv ansehen, sondern gerade so wie die zahlreichen kleinen scheibenförmigen als abgeleitet. Übrigens ist die Form und Größe der Chromatophoren bei Euglenen ein so labiles und äußeren Einflüssen unterworfenes Merkmal, daß seine Auswertung zu phylogenetischen Spekulationen wohl wenig Wert hat.

Auf Grund der obigen Überlegungen möchte ich folgende Gruppierung innerhalb der Eugleninen im engeren Sinne vorschlagen:

Als die primitivste Gattung wäre *Eutreptia* anzusehen. Sie zeigt einen symmetrischen Körperbau, während die durch Torsion des Körpers hervorgerufene Asymmetrie der übrigen Eugleninen sicher abgeleiteten Charakter hat. Sie hat zwei gleich lange Geißeln, während bei den anderen Eugleninen zwar von zwei Basalkörnern aus zwei Geißeln angelegt werden, diese aber zu einer einzigen verschmelzen, die dann nur mehr durch die Gabelung ihrer Basis ihren zusammengesetzten Charakter verrät¹⁾.

¹⁾ Auf die Gattung *Eutreptiella* DA CUNHA (syn. *Gymnastica* SCHILLER), die zwei freie, doch ungleiche Geißeln hat, wurde ich erst nach Abschluß des Manu-

Innerhalb der Gattung *Euglena* selbst repräsentiert *E. gracilis* einen primitiven Typus. Sie hat eine mittlere Anzahl einfacher Chromatophoren mit beschalteten Pyrenoiden und ist sowohl mit der Geißel als auch metabolisch beweglich. Wie im zweiten Teil dieser Untersuchungen gezeigt werden soll, nimmt sie ernährungsphysiologisch eine Sonderstellung gegenüber allen anderen untersuchten Euglenen ein, die auch ein primitives Merkmal zu sein scheint. Mit ihr sind einige Arten in eine Gruppe zu rechnen, die ihr morphologisch sehr ähnlich sind, z. B. *E. minima* und *E. pisciformis*. Dieser Gruppe lassen sich einige andere Arten anschließen, die ebenfalls im Besitz von Chromatophoren mit beschalteten Pyrenoiden sind, aber sonst eine kompliziertere Organisation zeigen und sich durch große Körpermaße auszeichnen, so *E. velata*, *E. granulata*, *E. anabaena*, *E. oblonga* und *E. sanguinea*.

Den zuletzt erwähnten Arten steht eine Gruppe nahe, die auch große Arten umfaßt, bei der jedoch die Chromatophoren pyrenoidfrei sind: *E. splendens*, *E. purpurea*, *E. rubida* u. ä.

Bei einer anderen Gruppe sind die verschwundenen Pyrenoide funktionell durch Paramylonherde im Plasma ersetzt, gleichzeitig zeigt sich die Tendenz der Anordnung der Chromatophoren um die Paramylonherde. Sie ist repräsentiert durch *E. viridis* und *E. geniculata*. *E. deses*, die auch Paramylonherde besitzt, vermittelt zwischen diesen Formen und der nächsten Gruppe.

In diese gehört *E. Klebsii*, die wie *E. deses* hier und da unbeschaltete in Reduktion begriffene Pyrenoide in den Chromatophoren führt, außerdem die pyrenoidfreien Arten *E. intermedia*, *E. Elenkinii* und *E. mutabilis*. Sie zeigen fortschreitend die Reduktion der Geißel und sind durchweg sehr stark metabolisch beweglich. Diese Gruppe deckt sich größtenteils mit den „Amastigatae“ ELENKIN'S. *E. fenestrata* ELENKIN möchte ich nicht zu ihr rechnen, da sie wohl ausgebildete Pyrenoide hat, sondern diese Art zu den pyrenoidführenden Formen stellen und ihren Geißelverlust als eine der Entwicklungstendenz der eben erwähnten Reihe konvergente Erscheinung auffassen.

Endlich lassen sich die großen starren Formen zu einer Gruppe zusammenfassen, die „*Rigidae*“ ELENKIN'S. Hierher gehören u. a. *E. oxyuris*, *E. spirogyra*, *E. fusca* und *E. tripteris*. Diese Gruppe ist auch ökologisch charakterisiert, da die meisten ihrer Vertreter

katharob sind und, wie ihre Empfindlichkeit bei Kulturversuchen zeigt, an ganz bestimmte Lebensbedingungen angepaßt zu sein scheinen. Die Vertreter der anderen Gruppen dagegen sind oligobis polysaprob und lassen sich meist gut kultivieren.

Die Gattung *Colacium* mit ihren pyrenoidführenden Chromatophoren läßt sich leicht an die sehr ähnlich organisierte *Euglena gracilis* anschließen. Sie unterscheidet sich von den Euglenen nur durch die Art der Festhaftung mit dem Vorderende. *Euglena chlamydotheca* nov. spec., eine pyrenoidfreie Form, die zeitweilig eine skulpturierte Hülle trägt, bildet die Vermittlung mit den Gattungen *Cryptoglena*, *Ascoglena* und *Trachelomonas*. Die Gattungen *Lepocinclis* und *Phacus* umfassen durchweg starre Formen mit scheibenförmigen pyrenoidfreien Chromatophoren und stehen daher in nahen Beziehungen zu der Gruppe der *Rigidae* innerhalb der Gattung *Euglena*. Die farblose Gattung *Menoidium* zeigt gewisse Ähnlichkeit mit den starren *Euglena*-Arten, während die Gattung *Astasia* den Typus einer apoplastiden Euglene aus den Gruppen der *E. gracilis* oder der *E. viridis* repräsentiert.

Die vorstehende Einteilung soll natürlich weder ein starres System noch eine strenge phylogenetische Ableitung darstellen, sondern nur die Möglichkeit der Aufklärung gewisser verwandtschaftlicher Beziehungen innerhalb dieser interessanten Flagellatengruppe erweisen.

Prag, Pflanzenphysiologisches Institut der deutschen Universität,
Juni 1927.

Tafelerklärung.

Tafel 10.

Fig. 1. *Euglena gracilis* KLEBS, durch Verdunklung einer frisch geimpften Kultur in Erdabkochung von Paramylon befreit. Die Chromatophoren sind als annähernd runde, intensiv grüne Scheiben sichtbar. Im Mittelpunkt der Chromatophoren sieht man die von Paramylon befreiten Pyrenoide. Der der Spitze am meisten genäherte Chromatophor zeigt deutlich die charakteristischen wellenförmigen Falten. Der Raum um den Zellkern sowie das Hinterende ist von Chromatophoren frei. Im letzten Körperabschnitt sind Volutinkörnchen angesammelt. Die Körperoberfläche zeigt die feine Spiralstreifung. Vergr. ca. 800×.

Fig. 2. *Euglena gracilis* KLEBS, die ursprünglich von Paramylon befreit war, nach dreitägigem Aufenthalt in einer 1proz. Glukoselösung im Dunkeln. Sowohl um die Pyrenoide als auch frei im Plasma ist soviel Paramylon abgelagert, daß die

Grenzen der Chromatophoren nicht mehr sichtbar sind. Der Kern ist durch einen hellen Fleck angedeutet, die Geißel sichtbar. In diesem Zustand findet man die *Euglene* auch meist in der Natur. Vergr. ca. 590 \times .

Fig. 3. *Euglena anaebaena* MAINX var. *minima* nov. var., durch Verdunklung einer frischen Impfung in Erepton von Paramylon befreit. Die Chromatophoren stellen große gelappte Scheiben dar und führen je ein von der Paramylonschale befreites Pyrenoid. Um die Chromatophoren besser hervortreten zu lassen, wurde mit dem Deckglas ein sanfter Druck ausgeübt, wodurch die *Euglene* veranlaßt wurde, an der Oberfläche der Pellicula zahlreiche Schleimtröpfchen hervorzustoßen. Vergr. ca. 800 \times .

Fig. 4. *Euglena anaebaena* MAINX var. *minima* nov. var., aus einer jungen Ereptonkultur am Licht. Die Pyrenoide der Chromatophoren sind beschalt. Vergr. ca. 700 \times .

Fig. 5. *Euglena viridis* EHRBG. aus einer frisch geimpften Kultur in Erdabkochung. Die sternförmige Anordnung der bandförmigen Chromatophoren um den durch den Paramylonherd bezeichneten Mittelpunkt der Zelle ist deutlich zu erkennen. Der helle Fleck im hinteren Körperteil ist der Kern. Die drei dunklen Flecke sind Reste des Hämochroms, daß sich beim Altern der vorhergehenden Kultur angesammelt hat und noch nicht ganz resorbiert ist. Um den Paramylonherd liegen einige kleine Paramylonkörner. Vergr. ca. 590 \times .

Fig. 6. *Euglena viridis* EHRBG. Ein anderer Stamm als in Fig. 6, der sich durch größere Körpermasse auszeichnet. Das Exemplar stammt aus einer frischen Impfung in Erepton. Die Chromatophoren sind sehr dicht um den Paramylonherd angeordnet, der Kern gut sichtbar. Vergr. ca. 700 \times .

Fig. 7. *Euglena deses* EHRBG. aus einer jungen Kultur in Erdabkochung. Der Kernraum wird von den zahlreichen scheibenförmigen Chromatophoren freigelassen. Im vorderen und im hinteren Körperabschnitt liegt je ein Paramylonherd, der hinten gelegene wird von einigen Hämochrombrocken umgeben, zur Ablagerung von Paramylon ist es noch nicht gekommen. Vergr. ca. 590 \times .

Fig. 8. *Euglena Klebsii* (LEMM.) nov. comb. (= *E. intermedia* (KLEBS) SCHMITZ var. *Klebsii* LEMM.). Die Exemplare stammen aus einer jungen Kultur in Erdabkochung, sind bereits geißellos und zeigen in den gelappten bandförmigen Chromatophoren die unbeschalteten Pyrenoide. Paramylon ist hier nur in Form ganz kleiner stabförmiger Körnchen vorhanden. Neben dem Augenfleck ist das Reservoir gut sichtbar. Vergr. ca. 590 \times .

Fig. 9. *Euglena intermedia* (KLEBS) SCHMITZ. Exemplar aus einer älteren Kultur in Erdabkochung, mit großen stabförmigen Paramylonkörnern angefüllt, die deutlich die Schichtung zeigen. Auch einige Hämochrombrocken sind bereits gebildet. Die zahlreichen Chromatophoren haben die Gestalt kleiner runder Scheiben. Die Geißel ist bereits abgeworfen. Vergr. ca. 590 \times .

Fig. 10. *Euglena intermedia* (KLEBS) SCHMITZ. Zwei Exemplare aus einer jüngeren Kultur in Erdabkochung, eines davon in metabolischer Bewegung. Die charakteristischen stabförmigen Paramylonkörner sind deutlich zu sehen. Vergr. ca. 200 \times .

Fig. 11. *Euglena olivacea* SCHMITZ. Die Chromatophoren sind unregelmäßig gelappte Scheiben und führen je ein Pyrenoid. Neben dem Augenfleck sind die Umrisse des Reservoirs sichtbar. Vergr. ca. 590 \times .

Fig. 12. *Colacium vesiculosum* EHRBG. Schwärmendes Exemplar aus einer jungen Kultur in Erepton. Die zahlreichen Chromatophoren sind scheibenförmig

und führen je ein Pyrenoid, das hier erst mit einer dünnen Paramylonschale versehen ist. Die Pellicula zeigt die zarte Spiralstreifung. Vergr. ca. 590 \times .

Fig. 13. *Astasia Dangeardii* LEMM. aus einer Speziesreinkultur in Erde-Käse-Röhrchen. Die Paramylonkörner heben sich gegen das farblose Plasma besonders scharf ab. Die Geißel ist gut zu sehen. Vergr. ca. 590 \times .

Fig. 14. *Phacus pleuronectes* (O. F. M.) DUJ. aus einer jungen Ereptonkultur. Die Furche im vorderen Körperabschnitt ist gut zu sehen, ebenso neben dem Augenfleck der Raum des Reservoirs. Die Chromatophoren sind als kleine runde Scheiben über den ganzen Körper verstreut. Ein großes charakteristisch ringförmiges Paramylonkorn liegt in der Mitte des Körpers. Gleich dahinter ist der Kern als matter Fleck zu sehen. Vergr. ca. 590 \times .

Fig. 15. *Phacus pleuronectes* mit LÖFFLER's Geißelbeize behandelt. Der Zellinhalt ist fast vollständig aufgelöst, seine Reste liegen im vorderen Körperabschnitt als dunkle Massen. Die Pellicula ist soweit zerstört, daß nur die elastischen Spiralstreifen übrig geblieben sind. Ihr Verlauf ist dadurch deutlich zu verfolgen. Auf beiden Seiten sind einige der elastischen Fasern durch die Auslösung einer Spannung abgespreizt. Vergr. ca. 700 \times .

Fig. 16 u. 17. Geißeln von *Phacus pleuronectes*, mit LÖFFLER's Geißelbeize behandelt. Durch die Beizung sind ihre Strukturen bedeutend vergrößert und so der Besatz aus feinen Cilien sichtbar gemacht. Wie Fig. 16 zeigt, läßt er das untere im Reservoir verlaufende Ende der Geißel frei und umläuft die Geißelspitze ein wenig. Da beide Geißeln beim Antrocknen an das Deckglas eine Torsion erlitten haben (die in Fig. 16 überdies eine Knickung) scheint der einseitige Cilienbesatz zunächst an der einen, dann an der anderen Geißelflanke zu verlaufen. Vergr. ca. 1100 \times .

Fig. 18. *Phacus parvula* KLEBS. Die Furche reicht bis zum Hinterende, wodurch auch der Chromatophor in zwei selbständige Lappen zerlegt wird. Vergr. ca. 590 \times .

Nachdruck verboten.
Übersetzungsrecht vorbehalten.

Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Eugleninen.

II. Teil.

Untersuchungen über die Ernährungs- und Reizphysiologie.

Von

Felix Mainx (Prag).

Inhaltsübersicht.

	Seite
I. Stoffwechsel	355
A. Die autotrophe Ernährung	356
B. Die heterotrophe Ernährung	368
a) Stickstoffwechsel	368
b) Kohlenstoffwechsel	374
C. Paramylonbildung	381
D. Ernährung von <i>Astasia</i>	384
II. Der Einfluß von Außenfaktoren auf Wuchsform und Reservestoffe	386
III. Taxien	400
IV. Zusammenfassung	407
V. Literatur	409

I. Stoffwechsel.

Für die meisten Peranemaceen ist die Aufnahme fester Nahrungspartikel als die gewöhnliche Art der Ernährung festgestellt, bei Euglenaceen und Astasiaceen wird die animalische Ernährung von KLEBS und den meisten späteren Untersuchern gelehrt. KENT (1882) hat dagegen die Aufnahme von Karminteilchen in den Plasmaleib von

Euglena viridis durch das Reservoir beobachtet und TANNREUTHER (1923) gelang das gleiche durch Überführung von *Euglena gracilis* in Tusche. Die Tuscheteilchen werden durch das Reservoir in den Körper aufgenommen und in kleinen „Nahrungsvakuolen“ gesammelt, die von der Plasmaströmung durch den ganzen Körper geführt werden. Ich beobachtete gelegentlich in einer sehr stark verunreinigten Kultur von *Euglena viridis* die Aufnahme von Stäbchenbakterien durch die Euglenen. Die Bakterien traten durch die nicht von der Pellicula überzogene Innenwand des Reservoirs in das Plasma über und waren in Häufchen von kleinen Vakuolen eingeschlossen, jedoch auch einzeln im Plasma zu beobachten. Ob die Bakterien verdaut wurden, war nicht festzustellen. Bei den rein heterotrophen Astasien und bei *Menoidium* konnte ich niemals feste Nahrungspartikel im Plasma sehen. Es ist wohl anzunehmen, daß es sich bei der Aufnahme der Bakterien um keinen normalen Ernährungsvorgang handelte, sondern daß eine starke Anhäufung kleiner Partikel im Außenmedium vielleicht automatisch deren Eindringen durch den Schlundkanal und deren Aufnahme durch das nackte Wandplasma des Reservoirs zur Folge hat. Durch die Plasmaströmungen werden die Fremdkörper dann weiter im Körper verbreitet. Auf keinen Fall kann die Aufnahme fester Nahrungspartikel für die Euglenaceen und Astasiaceen eine ausschlaggebende Rolle bei der Ernährung spielen. Bei den verwendeten bakterienfreien Kulturen ist sie ja sowieso ausgeschlossen.

A. Die autotrophe Ernährung.

KLEBS (1883) spricht die Ansicht aus, daß die grünen Eugleninen sich vorwiegend durch CO_2 -Assimilation unter Aufnahme anorganischer Salze ernähren, daß jedoch die Aufnahme organischer Substanzen in den Stoffwechsel nicht ausgeschlossen erscheint. Seine Versuche beweisen bereits die Möglichkeit rein autotropher Ernährung für *Euglena viridis*. KHAWKINE (1886) meint dagegen, daß zur gedeihlichen Vermehrung von *Euglena viridis* außer der CO_2 -Assimilation die Anwesenheit organischer Stoffe unbedingt notwendig sei, spricht ihr jedoch die Fähigkeit der rein heterotrophen Ernährung ab. Seine Versuche sind allerdings mit unreinen Kulturen durchgeführt und haben auch sonst noch soviel Fehlerquellen, daß eindeutige Schlüsse aus ihnen nicht zu ziehen sind. ZUMSTEIN (1900) hat als erster unter exakten Versuchsbedingungen gearbeitet und kommt zu dem Ergebnis, daß *Euglena gracilis* sich nur im Notfalle rein autotroph ernährt und dabei bedeutend schlechter fortkommt, als bei hetero-

tropher oder besonders bei mixotropher Ernährung. TERNETZ (1912), die ZUMSTEIN'S Versuche mit einer noch zuverlässigeren Methodik fortsetzt, kommt zu dem gleichen Resultat und schließt daraus, daß die CO_2 -Assimilation für *Euglena gracilis* eine bedeutend schwerere Aufgabe sei, als die Gewinnung des Kohlenstoffs aus organischen Verbindungen und daher nur im Notfalle zur Ernährung in Anspruch genommen werde. Daß dieser ohne Berücksichtigung der chemischen Umsetzungen in den Nährlösungen voreilig gezogene Schluß nicht berechtigt war, soll später gezeigt werden. DANGEARD'S Monographie (1901), sowie viele spätere Autoren stehen unter dem Einfluß der ZUMSTEIN'Schen Ergebnisse, und die Annahme einer obligat oder wenigstens vorwiegend mixotrophen Lebensweise der Euglenen ist sogar allgemein in Hand- und Lehrbücher übergegangen, obgleich PRINGSHEIM (1912) nachwies, daß *Euglena gracilis* auch bei rein autotropher Ernährung fast ebensogut gedeiht, wie bei Darbietung organischer Substanzen. Die Ansicht TANNREUTHER'S (1923), daß *Euglena gracilis* im schwärmenden Zustande sich vorwiegend mixotroph, im palmelloiden Zustand dagegen autotroph ernährt, beruht auf falschen Deutungen seiner Versuchsergebnisse. Eine ernährungsphysiologische Unterscheidung der verschiedenen Wuchsformen der Euglenen entbehrt jeder Begründung.

Wie schon früher (I. Teil, S. 324) erwähnt, ist die gute Vermehrung aller von mir untersuchten Euglenen in Erd- und Torfabkochung wohl ausschließlich auf die Verwertung anorganischer Salze und auf die CO_2 -Assimilation zurückzuführen. Auch in Liebig's Fleischextrakt werden wohl in erster Linie Ammoniumverbindungen als N-Quellen ausgenützt und der C-Bedarf vollständig oder zum größten Teil durch CO_2 -Assimilation gedeckt. Dasselbe dürfte von den meisten Lösungen unbekannter Zusammensetzung gelten, mit denen frühere Autoren gute Kulturerfolge bei *Euglena gracilis* erzielten (Erbsenwasser, Samenabkochungen, Fruchtsäfte, Quittenschleim, Heudekokt usw.), obwohl gerade diese Versuche oft als Beweise für die heterotrophe Ernährung der Euglenen ins Treffen geführt werden. Streng beweisend für die Fähigkeit der rein autotrophen Ernährung sind natürlich auch die Versuche mit den an organischen Substanzen sehr armen Erd- und Torfabkochungen nicht, sondern nur die Verwendung synthetischer Nährlösungen. Die Erfahrungen PRINGSHEIM'S (1912), daß die Berücksichtigung der Wasserstoffionen-Konzentrationsverhältnisse die Hauptrolle bei der Erzielung guter Kulturergebnisse in synthetischen Lösungen spielt, konnte ich vollauf bestätigen.

Außer der N-Quelle, die in einer Konzentration von 0,1 Proz. geboten wurde, enthielten die Lösungen stets 0,02 Proz. K_2HPO_4 und 0,01 Proz. $MgSO_4$. Diese relativ hohe Konzentration der Salze sagt den Euglenen am besten zu, wie Versuche mit verschiedenen Verdünnungen zeigten. Eine besondere Zugabe von Ca erübrigt sich, wenn die Versuche, wie es meist der Fall war, in Epruvetten aus gewöhnlichem böhmischen Kaliglas angesetzt werden, da genügend Ca aus dem Glas in Lösung geht. Überdies benötigen die Euglenen das Ca zu ihrer Ernährung gar nicht, wie PRINGSHEIM (1926) für *Euglena gracilis* gezeigt hat. Ich konnte die gleichen Erfahrungen bei Kultur von *Euglena viridis*, *E. deses* und *E. intermedia* in Ca-freier Nährlösung und Jenaglas-Epruvetten machen. Über die Notwendigkeit des Eisens wurden Versuche mit *Euglena gracilis*, *E. deses*, *E. viridis*, *E. intermedia*, *E. mucifera*, *E. velata* und *Colacium vesiculosum*, sowie zur Kontrolle mit einer Reinkultur von *Chlamydomonas umbonata* PASCHER ausgeführt. USPENSKI und USPENSKAJA (1924, 1925) haben ausführliche Studien über die optimale Konzentration des Eisens für verschiedene Algen angestellt und besonders für *Volvox globator* und *minor* die richtige Dosierung des Eisens in der Nährlösung als Hauptbedingung der dauernden Kultur angegeben. Nach ihrer Angabe verwendete ich folgende Nährlösungen:

I.		II.	
Na-Citrat	0,004 Mol.	KNO_3	0,025 Proz.
KNO_3	0,0025 "	$MgSO_4 + 7H_2O$	0,025 "
$MgSO_4 + 7H_2O$	0,0025 "	$Ca(NO_3)_2$	0,100 "
$Ca(NO_3)_2$	0,01 "	KH_2PO_4	0,025 "
KH_2PO_4	0,0025 "	K_2CO_3	0,0345 "
K_2CO_3	0,0005 Proz. einer mol. Lösung	$Fe_2(SO_4)_3$	0,00125 "

Diese Lösung wurde außer in der angegebenen Konzentration noch in $\frac{1}{3}$ und $\frac{1}{10}$ Verdünnungen angewendet. Zur Kontrolle dienten die gleichen Lösungen ohne Eisensulfat.

Fe_2O_3 in folgenden acht Stufen:
0,004, 0,003, 0,002, 0,0015, 0,001, 0,0005,
0,00025 und 0 Proz.

Die Resultate der Versuche waren nicht ganz eindeutig. Viele Einzelversuche fielen aus der Reihe, was aber bei dem unbeständigen Verhalten der Euglenen gegenüber synthetischen Nährlösungen, das später noch besprochen werden soll, nicht verwunderlich ist. Gar keine Unterschiede zwischen eisenhaltigen und eisenfreien Kulturen und unter den Kulturen mit abgestuftem Eisengehalt sind bei *Euglena gracilis* und *E. intermedia* zu bemerken. *E. mucifera*, *E. velata* und *Colacium vesiculosum* werden scheinbar ein wenig durch Eisen gefördert, eine deutliche Förderung durch das Eisen ist nur bei

Euglena deses und *E. viridis* zu beobachten, bei denen das Optimum des Eisengehaltes bei der Versuchsreihe I bei 0,003—0,002 Proz. Fe_2O_3 liegt. Noch ausgesprochener als bei diesen Euglenen tritt die Notwendigkeit des Eisens bei *Chlamydomonas umbonata* in Erscheinung. Doch ist auch diese Alge in ihrem Eisenbedarf so bescheiden, daß mit den gewöhnlich verwendeten reinen Chemikalien und Eprouvetten aus Kaliglas auch ohne besondere Eisenzugabe reichliche Vermehrung zu erzielen ist. Es zeigt sich also, daß viele Euglenen durch Eisenzugaben überhaupt nicht gefördert werden, also mit den als Verunreinigung anwesenden Eisenspuren schon vollkommen ihr Auslangen finden. Weitere Versuche über die Notwendigkeit von Metallionen wurden nicht angestellt.

Von anorganischen N-Quellen wurden KNO_3 , $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ und NH_4NO_3 geprüft, jedesmal in Konzentrationen von 0,1 Proz. ZUMSTEIN (1900), der Ammoniumsalze und Nitrate als N-Quellen dem Himbeersaft zusetzte, in dem er *Euglena gracilis* kultivierte, betont, daß er nur mit Ammoniumsalzen gute Vermehrung erzielte, nicht dagegen mit Nitraten. Auch TERNETZ (1912) stellt bei Darbietung von Ammoniumstickstoff bedeutend stärkeres Wachstum von *E. gracilis* fest als mit Nitraten. Die Annahme wäre ja nicht von der Hand zu weisen, daß in der Natur die am Standort der meisten Euglenen stets in großer Menge vorhandenen Ammoniumverbindungen von ihnen zur Deckung des N-Bedarfes verwertet werden, und die mit Energieverlust verbundene Reduktion des Nitrations für die Euglenen mit großen Schwierigkeiten verbunden ist. PRINGSHEIM (1912) wies jedoch nach, daß man bei der Entscheidung dieser Frage hauptsächlich die Anfangsreaktion der Nährlösung und noch mehr die durch einseitigen Verbrauch des Kat- oder Anions durch die Alge sekundär eintretenden Verschiebungen der H-Ionenkonzentration berücksichtigen muß, was die älteren Autoren nicht getan haben. Ich kann diese Resultate bestätigen und auf die meisten der von mir untersuchten Arten ausdehnen.

Die Verwendung des sekundären Phosphats in der Nährlösung empfiehlt sich zur Erzielung einer dem Neutralpunkt genäherten Reaktion, da die in Lösung befindliche Kohlensäure der Luft schon eine gewisse Ansäuerung bewirkt. Der pH -Wert der Nährlösung mit KNO_3 beträgt durchschnittlich 7,2, der der Lösung mit Ammoniumsalzen 6,7. Durch Verbrauch des N-haltigen Ions werden nun die Lösungen mit Nitraten entsprechend der Vermehrung der Euglenen immer mehr alkalisch, die Lösungen mit Ammonsalzen immer mehr sauer. So stieg der pH -Wert einer Lösung mit KNO_3 , in der *Euglena*

gracilis durch 5 Wochen gewachsen war, von 7,1 auf 7,6, in einer Lösung mit $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ fiel er in der gleichen Zeit von 6,7 auf 3,8(!). Dabei ist zu bedenken, daß infolge der konventionellen Ausdrucksform bei den Messungen der H-Ionenkonzentration nach MICHAELIS eine Maßeinheit der „p_H-Reihe“ im oberen (alkalischen) Teil einer größeren tatsächlichen Ionenkonzentrationsdifferenz entspricht als eine Maßeinheit im unteren (sauren) Teil. Dieser Größenunterschied in den tatsächlichen Differenzen steigt natürlich, je weiter die verglichenen Maßeinheiten in der Reihe auseinander liegen. Die Ansäuerung der Lösungen mit Ammonstickstoff läßt sich leicht verhindern, indem man der Nährlösung ein wenig CaCO_3 zusetzt, das sich nur wenig in Wasser löst, dagegen die entstehende Säure bindet. Der Zusatz dieses Salzes hat keinen schädigenden Einfluß auf die Algen, allerdings verändert er die Anfangsreaktion der Lösung von p_H = 6,7 auf 7,4. Nach 5 Wochen langem Wachstum von *E. gracilis* in der Lösung ist ihr p_H jedoch nur auf 6,7 gefallen, gegenüber 3,8 ohne Karbonat.

Die Versuche über die Verwertbarkeit von Ammon- und Nitrostickstoff wurden mit *Euglena gracilis*, *E. viridis*, *E. deses*, *E. pisciformis*, *E. minima*, *E. Klebsii*, *E. mucifera*, *E. velata*, *Colacium vesiculosum* und *Phacus pleuronectes* durchgeführt, sowie zum Vergleich mit *Chlamydomonas umbonata*.

Zur Beurteilung der Resultate sei vorausgeschickt, daß für alle Euglenen sich eine neutrale Anfangsreaktion der Nährlösung als die günstigste herausgestellt hat, daß die verschiedenen Arten aber verschieden empfindlich gegen Schwankungen der Reaktion gegen die alkalische oder saure Seite am Anfang oder während ihrer Entwicklung im Kulturröhrchen sind. Ein Vorversuch über die Wirkung verschiedener H-Ionenkonzentrationen mit 0,25 Proz. Liebig's Fleischextrakt und Zusätzen von einerseits $\frac{1}{500}$ und $\frac{1}{100}$ n NaOH, andererseits $\frac{1}{400}$ und $\frac{1}{100}$ n Zitronensäure ergab folgende Resultate:

	Zusatz von Zitronensäure		Fleischextrakt neutral	Zusatz von NaOH	
	$\frac{1}{100}$ n	$\frac{1}{400}$ n		$\frac{1}{500}$ n	$\frac{1}{100}$ n
<i>E. minima</i>	—	—	++	+	—
<i>E. pisciformis</i>	—	—	+++	++	—
<i>E. deses</i>	—	—	+++	+++	—
<i>E. viridis</i>	—	—	++	+++	++
<i>E. gracilis</i>	+	++	+++	±	—
<i>E. Klebsii</i>	++	+++	++	+	±
<i>Colacium vesiculosum</i>	—	—	++	++	—

+++ bedeutet sehr gute, ++ gute, + mittelmäßige, ± schwache, — fast keine oder gar keine Vermehrung im Zeitraum von 4 Wochen.

Die Tabelle zeigt, daß *Euglena minima*, *E. pisciformis* und *Colacium vesiculosum* neutrale Reaktion bevorzugen, während *E. deses* und besonders *E. viridis* an Schwankungen gegen die alkalische Seite, *E. gracilis* und noch mehr *E. Klebsii* an Schwankungen gegen die saure Seite angepaßt sind. Dies stimmt auch mit dem ökologischen Verhalten der genannten Arten gut überein, da sich *E. deses* und *E. viridis* meist in ammoniakhaltigen Wässern mit tierischen Zersetzungsprodukten und alkalischer Reaktion finden, *E. gracilis* dagegen mehr in Gewässern mit faulenden Pflanzenstoffen, die leicht sauer werden und *E. Klebsii* auf sauren Moorböden vorkommt¹⁾.

Allerdings muß bedacht werden, daß in der obigen Versuchsreihe die vornehmliche Stickstoffquelle des Fleischextrakts Ammoniumverbindungen sind, die Lösungen daher physiologisch sauer sind, was sicher die Optima gegen die alkalische Seite verschiebt. Überdies bezieht sich die Tabelle auf Impfungen in die bereits alkalisch oder sauer gemachten Lösungen und die in dieser Versuchsreihe gefundenen Grenzen der Empfindlichkeit gelten daher vor allem für die plötzliche Übertragung der Euglenenimpfmasse in Lösungen mit einer vom Neutralpunkt abweichenden Reaktion. Anders verhält es sich, wenn die Euglenen in neutrale oder annähernd neutrale Lösungen geimpft werden, deren H-Ionenkonzentration sich erst durch die Lebenstätigkeit der Algen gegen die Extreme verschiebt. Da zeigt es sich, daß allen untersuchten Arten, auch den gegen Alkali relativ weniger empfindlichen, wie *Euglena viridis*, bei steigender Alkalinität bald eine scharfe Grenze der Vermehrung gesetzt ist, während sie Schwankungen gegen die saure Seite hin in viel stärkerem Maße ertragen, wenn sie allmählich durch den NH_4 -Verbrauch eintreten, als wenn sie von Anfang an durch die Reaktion der Nährlösung gesetzt sind. So vermehrt sich *Euglena gracilis* in synthetischer Nährlösung, deren pH -Wert durch NH_4 -Verbrauch schon unter 4,0 gesunken ist, noch weiter unter lebhaftem Schwärmen, während eine Impfmasse aus einer Kultur mit neutralem Nährmedium in so stark saure Lösungen übertragen sofort eingeht. Eine entsprechend weitgehende Anpassung an alkalische Reaktion tritt jedoch auch allmählich niemals ein. Man kann also zusammenfassend sagen, daß die untersuchten Eugleninen verschieden stark empfindlich gegen plötzliche Veränderungen der H-Ionenkonzentration

¹⁾ Daß TANNREUTHER (1923) und TURNER (1917) alkalische Reaktion als optimal für *Euglena gracilis* angeben, hängt wohl mit unkontrollierbaren, durch andere Mikroorganismen verursachten Vorgängen in ihren unreinen Anhäufungskulturen zusammen.

nach oben oder unten sind, daß sie Reaktionen um den Neutralpunkt bevorzugen und daß sie im allgemeinen allmähliche Verschiebungen der Reaktion im Laufe der Kultur viel leichter und in weiteren Grenzen gegen die saure Seite hin vertragen als gegen die alkalische. Aus dem Zusammenwirken dieser Eigenschaften erklärt sich ihr ökologisches Verhalten.

In der Natur treten Schwankungen der H-Ionenkonzentration meist sehr allmählich ein und werden daher von vielen Arten in weiten Grenzen ertragen, wie die Untersuchungen WEHRLE'S (1927) zeigen, die übrigens mit den an Reinkulturen erzielten Ergebnissen gut übereinstimmen. Auch viele meiner Beobachtungen in der Natur zeigen deutlich, welchen wesentlichen Einfluß die Vorliebe für eine bestimmte Reaktion auf das Vorkommen der verschiedenen Euglenenarten hat. Ein besonders schönes Beispiel ist das vikariierende Auftreten von *Euglena deses* und *E. Klebsii* an einer bestimmten Stelle des Hirschberger Großeichufers. Dort bedeckt angeschwemmter Sand den bis an das Wasser reichenden Waldboden. Der Sand ist vom Teichwasser stets feucht gehalten und zeigt fast während des ganzen Jahres eine reiche Euglenenvegetation. Im Frühjahr besteht nun diese Flagellatenassoziation ausschließlich aus *Euglena Klebsii*, während im Sommer *Euglena deses* in steigenden Mengen auftritt, die bis in den Spätherbst die größte Masse der Assoziation ausmacht, während *Euglena Klebsii* fast ganz verschwindet, um erst wieder nach dem Frost plötzlich zu erscheinen. Dieser Zyklus konnte durch mehrere Jahre ganz regelmäßig beobachtet werden und beruht auf der Veränderung der Reaktion des Mediums. Das den Sand befeuchtende Wasser reagiert im Frühjahr deutlich sauer, im Sommer und Herbst neutral bis schwach alkalisch, was wahrscheinlich mit den bakteriellen Zersetzungserscheinungen in dem darunter liegenden Waldboden und in der Uferzone des Teiches zusammenhängt.

In den folgenden Versuchsreihen zeigt sich deutlich die Wirkung der oben geschilderten Faktoren. In der ersten Reihe wurden zur Abstufung der Anfangsreaktion das primäre und das sekundäre K-Phosphat (je 0,05 Proz.), sowie außer dem sekundären Phosphat ein Zusatz von $\frac{1}{100}$ n Na_2CO_3 verwendet. Als N-Quelle dienten entweder KNO_3 oder $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, je 0,1 Proz. Außerdem enthielten die Lösungen stets 0,01 Proz. MgSO_4 .

	KH ₂ PO ₄		K ₂ HPO ₄		K ₂ HPO ₄ + ¹ / ₁₀₀ n Na ₂ CO ₃	
	(NH ₄) ₂ SO ₄	KNO ₃	(NH ₄) ₂ SO ₄	KNO ₃	(NH ₄) ₂ SO ₄ ¹⁾	KNO ₃
<i>E. minima</i>	++	+	+++	±	—	—
<i>E. pisciformis</i>	±	±	++	+	—	+
<i>E. deses</i>	+	±	+	+	+	++
<i>E. viridis</i>	±	—	+++	+++	+	+++
<i>E. gracilis</i>	+++	+++	+++	+++	±	±
<i>E. Klebsii</i>	+++	+++	++	±	—	—
<i>Colacium vesiculosum</i>	+	—	++	+	—	—

Eine andere Versuchsreihe mit CaCO₃-Zusatz und mit 0,1 Proz. der N-Quelle, 0,02 Proz. K₂HPO₄ und 0,01 Proz. MgSO₄ ergab:

	KNO ₃	(NH ₄) ₂ SO ₄		NH ₄ NO ₃	
		ohne Zusatz	mit CaCO ₃	ohne Zusatz	mit CaCO ₃
<i>E. deses</i>	+	±	+	±	+
<i>E. gracilis</i>	+	++	+++	++	+++
<i>E. Klebsii</i>	+	++	+	++	+
<i>E. mucosa</i>	—	++	—	++	—
<i>E. velata</i>	±	++	—	+	—
<i>Phacus pleuronectes</i>	—	—	—	—	—
<i>Chlamydomonas umbonata</i>	++	+	++	++	+++

Es zeigt sich in beiden Tabellen, daß *Euglena viridis* und *E. deses* schwach alkalische Reaktion, *E. gracilis* und *E. Klebsii* schwach saure Reaktion leicht ertragen, ferner, daß manche Arten gegen Schwankungen der H-Ionenkonzentration ganz besonders empfindlich sind. Im allgemeinen scheinen die Ammonsalze bessere N-Quellen zu sein als die Nitrate, doch ist dies wohl nur auf die geringere Schädlichkeit der allmählich entstehenden sauren Reaktion gegenüber der basischen für die meisten Euglenen zurückzuführen. Die beim Verbrauch des NO₃-Ions entstehende alkalische Reaktion wird wohl noch durch die alkalischen Ausscheidungen des Kaliglasses der Eprouvetten verstärkt, wie Versuche mit Jenaglas beweisen, in denen das Wachstum in KNO₃-haltigen Lösungen stets besser ist als in gewöhnlichem Glas unter sonst gleichen Bedingungen. Einzelne große Euglenenformen, wie *E. mucosa* und *E. velata* sind ganz besonders empfindlich gegen Alkali und wachsen daher in KNO₃, sowie auch in Ammonsalzen mit CaCO₃-Zusatz überhaupt nicht. Für andere

¹⁾ Der hier in geringer Menge entstehende freie Ammoniak entweicht beim Sterilisieren.

Euglenen, die gegen die schwach alkalische Anfangsreaktion nicht so empfindlich sind, bedeutet dagegen die Pufferung durch CaCO_3 einen Vorteil und verbürgt der Kultur eine sehr lange Lebensdauer. Leider gibt es keine Substanz, die in ähnlicher Weise, ohne die Anfangsreaktion und Konzentration erheblich zu verändern oder die Euglenen sonstwie zu schädigen, die durch den NO_3 -Verbrauch auftretende alkalische Reaktion parallelisiert. Nur durch derartige Versuche könnte man überzeugend die Gleichwertigkeit der Ammonsalze und Nitrate als N-Quellen nachweisen, die durch die oben mitgeteilten Versuche nur wahrscheinlich gemacht ist.

Die obigen Tabellen sind das Resultat mehrerer Versuchsreihen, da einzelne Versuche infolge des nicht sehr regelmäßigen Wachstums der Euglenen in synthetischen Nährlösungen nicht zuverlässig sind. Bei Impfung aus Agarkulturen in synthetische Nährlösungen erhält man überhaupt keine vergleichbaren Ergebnisse, oft setzt überhaupt keine Vermehrung ein oder die Algen wachsen nur schlecht und langsam im Palmellenstadium ohne zu schwärmen. Es empfiehlt sich daher, bei der Anstellung von Versuchen mit synthetischen Lösungen zur Impfung stets nur Material aus Aufschwemmungen zu nehmen, die durch aseptisches Zentrifugieren und Waschen der schwärmenden Euglenen aus einer gut wachsenden Fleischextrakt- oder Ereptonkultur gewonnen sind. Nur bei Impfung mit solchen Aufschwemmungen erhält man günstige und vergleichbare Resultate. Es scheint bei Übertragung in synthetische Nährlösungen ein starker „Impfchoc“ vorhanden zu sein, den die mit Reservestoffen angefüllten und sich nur träge vermehrenden Euglenen von Agarkulturen schwerer überstehen, als die gesunden und sich lebhaft teilenden schwärmenden Zellen aus gut wachsenden Flüssigkeitskulturen. Bei dem Auftreten eines solchen Impfchocs spielen natürlich die Unterschiede in der H-Ionenkonzentration und in der Gesamtkonzentration der beiden Nährmedien eine wichtige Rolle, außerdem wohl auch das Verhältnis gewisser Ionen zueinander. Bei den großen Euglenenformen ist das Wachstum in synthetischen Lösungen jedoch auch bei Beachtung aller Vorsichtsmaßregeln, bei Impfung mit schwärmenden Zellen und Einhaltung gleicher H-Ionen- und osmotischer Konzentrationen viel schlechter und unregelmäßiger als in Erdabkochung, Fleischextrakt oder Erepton, so bei *Euglena olivacea*, *E. velata* und *E. intermedia*. *Euglena rubida* und *Phacus pleuronectes* waren überhaupt in synthetischen Nährlösungen nicht zur Vermehrung zu bringen, und doch kann für diese Formen, die meist in ganz reinen Gewässern vorkommen, die Fähigkeit zu rein auto-

tropher Ernährung kaum bezweifelt werden. Es scheint bei synthetischen Lösungen außer den erwähnten Faktoren eben noch ein anderes Moment den starken Impfcoc mit zu bewirken. Vielleicht enthalten die zur Herstellung der Lösungen verwendeten Salze oder das Glas Spuren von Schwermetallen, die auf besonders empfindliche Algen schon giftig wirken. Widerstandsfähigere Formen wie *Euglena gracilis*, *E. viridis*, *E. deses*, *E. Klebsii* u. a. wachsen jedoch in synthetischen Lösungen oft mit der gleichen Intensität wie in Erdabkochung oder Fleischextrakt.

Die meisten der untersuchten Euglenenarten finden also mit einer rein autotrophen Ernährung vollkommen ihr Auslangen. Nur bei den großen Arten, deren Lebensweise schon eine vorwiegend autotrophe Ernährung in der Natur wahrscheinlich macht, gelingt deren Nachweis durch ihre Empfindlichkeit gegen ungünstige Nebenwirkungen der synthetischen Lösungen nicht immer einwandfrei. Dieses Resultat stimmt nicht ganz mit dem ökologischen Verhalten vieler Euglenenarten überein, die wie z. B. *Euglena viridis* und *E. deses* als „meso- bis polysaprob“ bezeichnet werden und mit Vorliebe an Standorten vorkommen, die reich an verwesenden organischen Substanzen sind. Diese Euglenen sind gegen die Anwesenheit organischer Zersetzungsprodukte im Gegensatz zu vielen anderen Algen gar nicht empfindlich und dies dürfte wohl zur Folge haben, daß sie sich an solchen Standorten anhäufen, während sie in reineren Gewässern, in denen sie mittels autotropher Ernährung auch ganz gut fortkommen könnten, von der Konkurrenz anderer Algenformen zurückgedrängt werden. Ähnliches dürfte von den meisten Cyanophyceen gelten.

Versuche, *Euglena viridis*, *E. deses* und *E. pisciformis* mit K-Nitrit in sonst kompletter Nährlösung zu ernähren, lieferten ein negatives Resultat, während dies bei höheren Pflanzen wiederholt gelungen sein soll.

Die Aufnahme des NO_3 -Ions in den Eiweißstoffwechsel führt natürlich über den Weg einer Reduktion und ist daher weniger ökonomisch als die Verarbeitung des NH_4 -Ions. In diesem Zusammenhang sei auf neuere auch für die Pflanzenphysiologie sehr bedeutensame Arbeiten von KNOOP und OESTERLIN (1925) hingewiesen, denen die Synthese von Aminosäuren in vitro bei gewöhnlichen Temperatur- und Druckverhältnissen durch Katalysatoren (Platin, Palladium) gelungen ist. Sie erfolgte durch Hydrierung aus einem Gemisch von Ketonensäuren und Ammoniak, die wahrscheinlich zu Iminosäuren zusammentreten, deren Doppelbindung dann durch Eintritt von Wasser-

stoff gelöst wird. Es ist nachgewiesen, daß auch im Tierkörper, wenn auch nur in geringem Maße, die Assimilation von anorganischem Stickstoff stattfindet. Es ist nicht unwahrscheinlich, daß auch im Pflanzenreich dieser im Experiment gangbare Weg den natürlichen Vorgängen bei der Aminosäuresynthese entspricht. Daß die zur Aminosäuresynthese verwendeten N-freien Komplexe nicht dem assimilatorischen, sondern dem dissimilatorischen Stoffwechsel angehören oder wenigstens irgendwie mit der Atmung zusammenhängen, machen KLEIN und KISSER (1925) wahrscheinlich.

Bei Euglenen reduziert das Enzym der Nitratreduktion unter gewöhnlichen Bedingungen offenbar nur soviel NO_3^- -Ionen, als sofort im Stoffwechsel weiterverwendet werden können, da auch bei sehr starker Vermehrung von *Euglena gracilis* und *E. viridis* in Nitrat-haltigen Lösungen in der Kulturflüssigkeit nach dem Abzentrifugieren der Euglenen mit dem Neßlerreagens kein zu Ammoniumverbindungen vollständig reduzierter Stickstoff nachzuweisen ist, wie dies WARBURG und NEGELEIN (1922) bei *Chlorella*, KLEIN und KISSER (1925) bei höheren Pflanzen, allerdings hauptsächlich bei abgeänderten Kulturbedingungen gelungen ist.

Der Verbrauch von Ammoniumverbindungen als N-Quellen ist also für die Algen bedeutend ökonomischer und von diesem Gesichtspunkt aus verdienen die Kulturversuche mit NH_4NO_3 besonders hervorgehoben zu werden. Man wäre geneigt anzunehmen, daß der N-Gewinn aus dieser Verbindung sowohl durch Aufnahme des NH_4^+ -Ions als auch durch Reduktion des NO_3^- -Ions erfolge. Der gleichzeitige Ablauf dieser beiden für die Euglenenzelle leicht durchführbaren Prozesse hätte dann zur Folge, daß die H-Ionenkonzentration dauernd dem Neutralpunkt genähert bliebe. Dies wäre für die Euglenen ein großer Vorteil und würde ihnen fortgesetzte Vermehrungsmöglichkeiten bis zur vollständigen Erschöpfung der N-Quellen verbürgen. Dies ist jedoch nicht der Fall, wie p_H -Messungen beweisen. Durch 5 Wochen langes Wachstum von *Euglena gracilis* sinkt der p_H -Wert einer Lösung mit NH_4NO_3 von 6,7 auf durchschnittlich 3,4 (!), also noch stärker als bei der Verarbeitung von $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, wo nach der gleichen Zeit des Euglenenwachstums ein durchschnittlicher Wert von 3,8 gefunden wurde. Diese starke Ansäuerung beweist, daß nur die NH_4^+ -Ionen als N-Quelle verwendet wurden, die NO_3^- -Ionen dagegen gar nicht oder doch nur in sehr geringem Maße, obwohl durch gleichzeitige Verwertung des NO_3^- -Ions, zu der die Euglenen ja auch gut befähigt sind, eine sehr günstige Pufferung der H-Ionenkonzentration hätte erzielt werden können.

Solange noch NH_4 -Ionen in der Lösung vorhanden sind, wird also von der Fähigkeit zur Reduktion von NO_3 überhaupt kein Gebrauch gemacht. Ob und in welchem Maße ein so scharfes Auswahlvermögen auch bei anderen grünen Pflanzen vorhanden ist, müssen weitere Untersuchungen womöglich mit Hilfe von quantitativen Analysen erweisen. Der einseitige Verbrauch des NH_4 -Ions aus NH_4NO_3 geht übrigens nicht nur bei schwach saurer, sondern auch bei schwach alkalischer Anfangsreaktion vor sich, wie die Versuche mit CaCO_3 -Zusatz beweisen. Hier sinkt der p_H -Wert in 5 Wochen von 7,4 trotz der puffernden Wirkung des Karbonats auf 6,6.

Als C-Quelle bei der autotrophen Ernährung kommt ausschließlich die Assimilation der in dem Kulturmedium gelösten Kohlensäure der Luft in Betracht. In der Natur wird der Gehalt an Bikarbonaten, sowie die Atmungstätigkeit von Mikroorganismen den CO_2 -Gehalt des Wassers erhöhen. Daß die Atmungstätigkeit von Mikroorganismen allein oft genügt, um eine reiche Vermehrung zu gestatten, zeigen Versuche mit organischen Substanzen im CO_2 -freien Raum, wo Röhrcchen mit zufälliger Bakterieninfektion reiches Euglenenwachstum zeigen, während bakterienfreie Parallelkulturen mit der gleichen organischen Substanz oder ihren möglichen Zersetzungsprodukten kein Euglenenwachstum aufweisen. DAHM (1926) hat nachgewiesen, daß *Sphagnum* und andere höhere Wasserpflanzen, doch auch Algen, wie *Oedogonium*, *Spirogyra* und *Vaucheria*, Karbonate als CO_2 -Quellen ausnützen können, wobei der p_H -Wert der Lösung natürlich stark ansteigt. Ähnliche Versuche führte ich mit *Euglena gracilis*, *E. viridis* und *Chlamydomonas umbonata* aus. Die Nährlösung mit KNO_3 als N-Quelle wurde mit CaCO_3 versetzt und der Versuch in CO_2 -freien Raum gebracht. Die Kontrollen in freier Luft zeigten anfangs einen p_H -Wert von 7,2, in ihnen entwickelten sich die Algen ganz normal, p_H nach 4 Wochen 7,3. Im CO_2 -freien Raum betrug der p_H -Wert bei der Impfung 7,7. *Euglena viridis* zeigte nach 4 Wochen gar keine, *E. gracilis* und *Chlamydomonas* eine sehr schwache Vermehrung. Die Zellen sahen dabei sehr verhungert aus und führen kein Paramylon, während sie in der Parallelkultur in freier Luft mit großen Paramylonkörnern angefüllt sind. Der p_H -Wert beträgt nach 4 Wochen bei *E. gracilis* und *E. viridis* 7,7, bei *Chlamydomonas* 7,9. Nur bei dem letzteren ist also eine unbedeutende Erhöhung des p_H -wertes zustande gekommen, der CO_2 -Gewinn der geprüften Algen aus dem Karbonat ist daher sehr unwahrscheinlich. Allerdings ist der Einwand naheliegend, daß die durch den Karbonatzusatz bedingte Anfangsreaktion der Lösung von 7,7 p_H im kohlendioxidfreien Raum

für unsere Algen eine viel zu alkalische ist und schon an und für sich so stark schädigen muß, daß eine bessere Vermehrung nicht zu erwarten ist.

B. Die heterotrophe Ernährung.

Ältere Autoren haben oft aus dem guten Wachstum von Euglenen und anderen Algen in Lösungen mit organischer Substanz auf ihre heterotrophe Ernährung geschlossen, ohne zu bedenken, daß ja auch in solchen Lösungen meist anorganische Salze vorhanden sind und die Kohlensäure der Luft freien Zutritt hat, so daß man sich die Ernährung der Algen ganz gut autotroph vorstellen kann und die organischen Stoffe dabei nur als Reizstoffe oder sonstwie fördernd wirken könnten. Doch auch dort, wo exaktere Versuchsbedingungen gewählt wurden, hat man sich selten darüber Rechenschaft abgelegt, ob die geprüfte organische Substanz nur als N-Quelle, nur als C-Quelle oder gleichzeitig zur Versorgung des Stickstoff- und Kohlenstoffbedarfes verwendet wird, was für die Beurteilung der Ernährungsweise von großer Wichtigkeit ist. Als heterotroph oder saprophytisch schlechthin kann man wohl nur dann einen Organismus bezeichnen, wenn er sowohl den N- wie den C-Bedarf ganz aus organischen Substanzen deckt.

a) Stickstoffwechsel.

ZUMSTEIN (l. c.) hat in Peptonlösungen sehr gute Entwicklung von *Euglena gracilis* bekommen und glaubt, daß die Algen nicht nur ihren N-, sondern auch ihren C-Bedarf aus dem Pepton bestreiten. Er hat allerdings meist mit Zusätzen von 1 Proz. und mehr Zitronensäure gearbeitet, wodurch das schon an sich nicht einheitliche Pepton beim Sterilisieren sicher weitgehend zersetzt und die Zitronensäure wohl auch teilweise gebunden wurde. Sichere Schlüsse lassen sich daher aus seinen Versuchen nicht ziehen, obwohl sie die Verwendung der Pepton-Abbauprodukte, zum mindesten als N-Quellen sehr wahrscheinlich machen. TERNETZ (l. c.) fand, daß Glykokoll, Alanin, Asparagin und Harnsäure gute N-Quellen für *Euglena gracilis* darstellen, ja daß sie den anorganischen N-Verbindungen etwas überlegen sind. Schlechter zu verwerten sollen Leucin, Asparaginsäure und Kreatin sein, während Hippursäure und Harnsäurederivate schädigend wirken. Auch sie findet die Vermehrung in Peptonlösungen (auch meist mit Zitronensäurezusatz) noch viel stärker als in den besten brauchbaren Aminosäuren. PRINGSHEIM (l. c.) stellt schwaches Wachstum von Agarkulturen bei Verwendung von Aspa-

ragin und Aminosäuren als N-Quellen fest, in Pepton (ohne Säuresatz!) bekommt er nur mittelmäßige Vermehrung.

Ich prüfte Glykokoll, Leucin, Glutaminsäure und Asparagin in Konzentrationen von 0,1–0,5 Proz. mit Zusatz von 0,02proz. K_2HPO_4 und 0,01proz. $MgSO_4$. Wenn eine lackmussaure Reaktion auftrat, wurde die Lösung durch tropfenweisen Zusatz einer dünnen K-Karbonatlösung neutralisiert. Die Resultate mit sechs verschiedenen Euglenenarten waren, wie die folgende Tabelle zeigt, sehr schlecht.

	Glykokoll	Leucin	Glutaminsäure	Asparagin
<i>Euglena gracilis</i>	—	—	±	+
<i>E. viridis</i>	+	±	—	—
<i>E. deses</i>	—	—	—	—
<i>E. pisciformis</i>	—	±	—	—
<i>E. minima</i>	—	—	—	—
<i>E. Klebsii</i>	±	±	±	—

Worauf dieser Mißerfolg beruhte, der größtenteils in Widerspruch zu den Befunden der oben erwähnten Autoren steht, war zunächst unverständlich. Auch das von ihnen beobachtete gute Wachstum in Eiweißabbauprodukten wäre unverständlich, wenn *Euglena gracilis* den Stickstoff nicht aus Aminosäuren beziehen könnte. Es wurde daher versucht, die genannten Euglenen in Abbaugemischen zu kultivieren, die aus 0,5proz. Lösungen von Pepton (WITTE) und Gelatine durch 24stündige Verdauung mit Trypsin (KAHLBAUM) im Brutschrank hergestellt wurden. Diese Abbaugemische geben keine Neßler- und keine Diphenylamin-Schwefelsäure-Reaktion, dagegen starke Biuretreaktion, enthalten also keine Ammoniumverbindungen oder Nitrate, dagegen Aminosäuren und Peptide. Sie wurden zum Gebrauch mit doppelt dest. Wasser auf das 6fache verdünnt. Die Resultate waren durchwegs befriedigend:

	<i>E. gracilis</i>	<i>E. viridis</i>	<i>E. deses</i>	<i>E. pisciformis</i>	<i>E. minima</i>	<i>E. Klebsii</i>
Trypsin-Pepton	++	+	+	+	+	+
Trypsin-Gelatine	++	++	++	+	+	+

In einer weiteren Versuchsreihe wurde eine 5proz. Peptonlösung unter Zusatz von Äther durch 48 Stunden mit Pepsin (GRÜBLER) bei 30° behandelt, dann durch 24 Stunden mit Trypsin und endlich durch 5 Tage mit dem Darmsaft eines frisch getöteten Hundes

(Erepsin). Dadurch wurde ein vollständiger oder wenigstens annähernd vollständiger Abbau des Peptons zu Aminosäuren erzielt: die Biuretreaktion war vollkommen negativ, ebenso Nessler. Das Gemisch wurde zum Gebrauch auf die 10fache Menge verdünnt und mit 0,02proz. K_2HPO_4 und 0,01proz. $MgSO_4$ versetzt. Die Vermehrung der Euglenen in dieser Lösung ist ganz ausgezeichnet, besser als in allen anderen verwendeten Nährlösungen. Sie setzt sofort nach dem Impfen mit großer Intensität ein und erreicht besonders bei *Euglena gracilis* einen so hohen Grad, daß die ganze Flüssigkeit innerhalb eines Monats zu einer dichten, tief dunkelgrünen Aufschwemmung wird. Das Wachstum in diesen Kulturen ist nahezu unbeschränkt, noch nach mehreren Monaten sind die meisten Zellen im schwärmenden Zustand. Bei *Euglena gracilis* und den anderen gut wachsenden Arten bilden nach längerer Kulturdauer die abgesunkenen, doch noch immer träge beweglichen Zellen einen hohen breiigen Bodensatz. Fast ebenso starkes Wachstum ließ sich in 0,25proz. Lösungen von Erepton erzielen, dem meist auch noch K-Phosphat und Mg-Sulfat zugesetzt wurden. Erepton ist ein vollständiges Eiweißabbauprodukt, das nach ABDERHALDEN durch fermentative Verdauung von Muskelfleisch früher von der Firma Meister Lucius & Brüning in Höchst a. M. als Nährpräparat hergestellt wurde. Es hat einen Gesamtstickstoffgehalt von 13,5 Proz., gibt keine Biuret- und keine Diphenylamin-Schwefelsäurereaktion und nach Kochen nur eine fast unmerkliche Nesslerreaktion, enthält also den Stickstoff nur in Form von Aminosäuren. Der leichteren Verwendbarkeit wegen wurde das Erepton vielfach statt des selbst hergestellten vollständigen Abbauproduktes aus Pepton zur Kultur von Eugleninen verwendet, wo es darauf ankam, dichtes und lebhaft schwärmendes Material zu bekommen.

Gute bis sehr gute Vermehrung zeigen in den beiden Aminosäuregemischen folgende Eugleninen: *Euglena gracilis*, *E. viridis*, *E. deses*, *E. pisciformis*, *E. minima*. *E. Klebsii*, *E. intermedia*, *E. stellata*, *E. anabaena* var. *minor* und var. *minima*, *E. reticulata*, *E. mucifera*, *E. olivacea*, *E. velata*, *Colacium vesiculosum* und *Phacus pleuronectes*. Natürlich erreicht die Vermehrung der in Kultur im allgemeinen nur schlecht wachsenden großen Arten, wie *Euglena intermedia*, *E. velata*, *E. mucosa* und *Phacus pleuronectes* niemals den geschilderten hohen Grad, wie bei den auch sonst weniger empfindlichen Arten *Euglena gracilis*, *E. viridis*, *E. deses* usw. Doch ist auch ihr Wachstum in den Aminosäuregemischen ein bedeutend besseres als in allen übrigen Nährlösungen. Zum Vergleich wurde

Chlamydomonas umbonata in den Aminosäuregemischen kultiviert und zeigte ebenfalls ganz ausgezeichnetes Wachstum im Gegensatz zu *Eremosphaera viridis*, die als typische rein autotrophe Alge in den genannten Lösungen überhaupt nicht zur Vermehrung zu bringen ist (MAINX 1927).

Es zeigte sich also, daß die durch fermentativen Abbau von Eiweißkörpern gewonnenen Aminosäuregemische für alle untersuchten Eugleninen ganz ausgezeichnete N-Quellen darstellen, was nicht in Einklang steht mit den fast vollständigen Mißerfolgen mit einzelnen Aminosäuren. Zunächst lag die Vermutung nahe, daß die Kombination gewisser Aminosäuren die Voraussetzung einer zureichenden N-Ernährung sei. Es wurde versucht, *Euglena gracilis* mit einer synthetischen Mischung von Aminosäuren zu ernähren, die ungefähr dem Abbauendprodukt der Gelatine entspricht. Die Nährlösung hatte folgende Zusammensetzung: 0,2 Proz. Glykokoll, 0,07 Proz. Leucin, 0,2 Proz. Glutaminsäure, 0,1 Proz. Arginin, 0,02 Proz. K_2HPO_4 und 0,01 Proz. $MgSO_4$. Das Wachstum von *Euglena gracilis* war jetzt zwar besser als mit einzelnen Aminosäuren, doch noch immer sehr schwach, so daß in der Kombination mehrerer Aminosäuren wohl kaum die Ursache für das üppige Wachstum in den natürlichen Gemischen zu suchen ist. Es ist vielmehr wahrscheinlich, daß die präparativ hergestellten „chemisch reinen“ Aminosäuren Spuren von Schwermetallen oder anderen für die Algen stark giftigen Stoffen enthalten, die bei ihrer Isolierung aus natürlichen Abbauemischen leicht in das Präparat gelangen können. Das Verhalten der übertragenen Euglenenimpfmasse spricht auch sehr für diese Annahme; entweder sterben die Zellen sofort ab oder sie degenerieren unter Anhäufung von großen Paramylonmassen und unter Verblässen der Chromatophoren, ohne zu schwärmen. In N-freien Nährlösungen, die keine schädlichen Stoffe enthalten, bilden sie dagegen schwärmende Zellen, die nicht auffallend viel Paramylon speichern und erst nach längerer Zeit unter Anhäufung von Hämochrom verhungern. In Erepton und natürlichen Abbaugemischen sind die Euglenen stets sehr gesund, enthalten fast kein Paramylon, lebhaft grüne Chromatophoren und schwärmen sehr lange. Die geschilderten Degenerationserscheinungen können also keine Wirkung der Aminosäure-Ernährung sein.

Die guten Resultate, die ältere Autoren bei *Euglena gracilis* mit Peptonlösungen hatten, wurden meist so gedeutet, daß die Euglene ihren N-Bedarf auch aus Peptiden decken kann. Nun enthält aber Pepton schon an und für sich geringe Mengen von Aminosäuren und

außerdem sterilisierten die genannten Forscher die Lösungen meist nach Zusatz von Zitronensäure, wodurch eine weitere Hydrolyse von Peptiden eingetreten sein dürfte. Kocht man Pepton in alkalischer Lösung, so bildet sich überdies Ammoniak. Es wurden daher in meinen Versuchsreihen nur reine Peptonlösungen ohne Zusätze verwendet. Außerdem wurde eine Abkochung von Käse als natürliches Abbaugemisch geprüft, das außer Eiweißkörpern auch sicher durch die Bakterientätigkeit gebildete Aminosäuren enthält.

	<i>E. gracilis</i>	<i>E. viridis</i>	<i>E. pisciformis</i>	<i>E. minima</i>	<i>E. deses</i>	<i>E. Klebsii</i>
Pepton 0,1–0,25 Proz. Käseabkochung	++	±	±	±	±	±
$\frac{1}{10}$ verdünnt	+++	+++	++	++	++	++

Das ausgezeichnete Wachstum in Käseabkochung ist auf Kosten von Aminosäuren zu setzen, während mit Pepton von den untersuchten Arten *Euglena gracilis* gut, alle anderen nur sehr schwach gedeihen. Dies erfolgt wohl auf Kosten der geringen in Pepton enthaltenen Aminosäuremengen, während *Euglena gracilis* befähigt erscheint, selbst Peptide zu Aminosäuren abzubauen. Dies bestätigt sich durch Versuche, *Euglena gracilis* auf Fleischgelatine zu kultivieren. Sie zeigt ebenso wie *Euglena viridis* und *E. Klebsii* auf diesem Substrat sehr gute Vermehrung wohl auf Kosten der im Fleischwasser enthaltenen anorganischen Salze. Während die Gelatine bei *Euglena viridis* und *E. Klebsii* durch Monate hindurch fest bleibt, tritt bei Impfung mit *Euglena gracilis* nach 3 Wochen Verflüssigung der Gelatine ein, nach 4 Wochen ist die Gelatine vollkommen verflüssigt. Auf Milchagar entstehen um die Kolonien von *Euglena gracilis* helle Höfe, während durch *Euglena viridis* und *E. deses* keine Klärung des Agars eintritt. *Euglena gracilis* besitzt also im Gegensatz zu den anderen Euglenen peptolytische Fermente.

Die Aufnahme der Aminosäuren in den Stoffwechsel könnte entweder so erfolgen, daß sie im ganzen zum Aufbau der körpereigenen Eiweißstoffe verwendet werden oder daß sie desamidiert werden und nur der N-haltige Anteil in den Stoffwechsel aufgenommen wird. Im letzteren Falle müßte durch Anhäufung des Fettsäurerestes eine Ansäuerung der Außenlösung erfolgen. p_H -Messungen ergaben folgende Resultate: p_H der Ereptonnährlösung vor der Impfung 5,8, nach 6 Wochen langem Wachstum von *Euglena gracilis* 5,7, von *Euglena viridis* 5,6. Die sehr geringe Veränderung des

p_H-Wertes kann vernachlässigt werden und es erscheint damit die Aufnahme der ganzen Aminosäuren in den Stoffwechsel als wahrscheinlich. Es könnte dann allerdings eine Desamidierung der Aminosäuren im Körper erfolgen, der N-haltige Anteil mit Kohlehydraten zu Aminosäuren gekoppelt und der N-freie Rest in den Kohlehydratwechsel aufgenommen oder zur Atmung verbraucht werden. Dies kann man auf Grund der p_H-Messungen natürlich nicht entscheiden.

Aus welchen Verbindungen bei gleichzeitiger Anwesenheit von Aminosäuren und NH₄-Ionen bzw. von Aminosäuren und NO₃-Ionen der Stickstoff bezogen wird, zeigten folgende Versuche:

	Erepton 0,25 Proz.	KNO ₃ 0,1 Proz.	(NH ₄) ₂ SO ₄ 0,1 Proz	KNO ₃ 0,1 Proz. 0,15 Proz. Erepton	(NH ₄) ₂ SO ₄ 0,1 Proz. 0,15 Proz. Erepton
<i>Euglena gracilis</i>	++	+	+	++	+++
<i>E. viridis</i>	++	+	±	++	+
<i>Chlamydomonas umbonata</i>	++	++	+	+++	+

Jedesmal + 0,02 Proz. K₂HPO₄ und 0,01 Proz. MgSO₄.

Die Bezeichnung mit +- und -- Zeichen in dieser Tabelle ist ebenso wie in den anderen Tabellen nicht so aufzufassen, daß diese Zeichen absolute Größenordnungen der Vermehrung bedeuten. Es sind daher die hier verwendeten Bezeichnungen z. B. nicht direkt vergleichbar mit denselben Zeichen in der Tabelle S. 363. Sie sind als Maßstäbe nur innerhalb einer Versuchsreihe vergleichbar. Da die Vermehrung in Erepton, wie früher eingehend geschildert wurde, stets bedeutend stärker ist als in synthetischen Nährlösungen, mußte der „Wert“ eines +- Zeichens hier natürlich größer gewählt werden als bei der tabellarischen Darstellung der Versuche mit synthetischen Lösungen. Aus der Tabelle ist zunächst zu ersehen, daß die Vermehrung in den ereptonhaltigen Lösungen stets viel besser ist, als in den rein synthetischen, dann die schon erwähnte Tatsache, daß *Euglena gracilis* saure Reaktion leicht erträgt, *Euglena viridis* und *Chlamydomonas umbonata* dagegen nicht und schwach alkalische bevorzugen. Die Messungen der Veränderung der H-Ionenkonzentration während der Kultur geben uns wieder einen Indikator für die Beurteilung des N-Wechsels. In der reinen Ereptonlösung ist sie nahezu unverändert geblieben, in den synthetischen Lösungen zeigt sie die durch den Verbrauch des betreffenden N-haltigen Ions bedingten und vorauszusehenden Veränderungen. Interessant ist es

jedoch, daß auch bei Vorhandensein von Erepton (in den letzten beiden Kolonnen der Tabelle) die gleichen Veränderungen eintreten. So sinkt in der ammonium- und ereptonhaltigen Lösung der p_H -Wert bei *Euglena gracilis* von 6,6 auf 4,5, bei *Euglena viridis* auf 6,1, bei *Chlamydomonas* auf 5,0. Er steigt in der nitrat- und ereptonhaltigen Lösung von 7,1 bei *Euglena gracilis* auf 7,7, bei *Euglena viridis* auf 7,6, bei *Chlamydomonas* auf 7,9. Daraus ist zu ersehen, daß trotz der Anwesenheit der als Stickstoffquellen ausgezeichnet geeigneten Aminosäuren des Ereptons doch der anorganisch gebundene Stickstoff ausgenützt wird. In welchem Maße dies geschieht, ob ausschließlich oder in einem gewissen Verhältnis zu eventuell auch verwerteten Aminosäuren, kann man aus den p_H -Messungen nicht schließen. Quantitative Analysen mit größeren Materialmengen müßten hier die Entscheidung bringen. Wohl kann man aber daraus schließen, daß die Aufnahme des NH_4 -Ions ja sogar die Reduktion des NO_3 -Ions für die untersuchten Algen leichter durchführbar ist, als die Aufnahme der Aminosäuren in den Stoffwechsel. Dies macht es sehr unwahrscheinlich, daß die ganzen Aminosäuremoleküle unverändert zum Aufbau des körpereigenen Eiweißes verwendet werden, sondern läßt auf einen komplizierten Umbau dieser Substanzen im N-Stoffwechsel schließen. In ökologischer Beziehung ergibt sich die interessante Tatsache, daß für Euglenen auch dort, wo Eiweißabbauprodukte an ihrem natürlichen Standort vorhanden sind, der anorganisch gebundene Stickstoff die Hauptnahrung darstellt, solange solcher überhaupt zur Verfügung steht.

Es ist allerdings nun nicht einzusehen, warum die Vermehrung in den Aminosäuregemischen mit Ammonium- oder Nitratzusatz um so vieles besser ist, als in den synthetischen Nährlösungen allein. Die Veränderungen der Reaktion sind ja in beiden die gleichen. Man müßte zu der Annahme greifen, daß irgendwelche im Erepton vorhandene kolloide Substanzen auf die synthetische Lösung entgiftend oder daß sie als Reizstoffe wirken. Vielleicht werden auch bei Anwesenheit von Aminosäuren oder irgendwelchen Beimengungen des Ereptons weniger schädliche Stoffwechselprodukte gebildet. Endlich ist es denkbar, daß gewisse in kleinen Mengen benötigte Substanzen leichter aus den Aminosäuren herstellbar sind, während die Hauptmenge des N-Bedarfes aus den anorganischen Salzen gedeckt wird.

b) Kohlenstoffwechsel.

Die Versuche älterer Autoren, die C-Beschaffung aus organischen Substanzen nachzuweisen, sind meist mit einer unzulänglichen Methodik

durchgeführt. Die Verwendung von Nährlösungen, in denen mehrere Substanzen kombiniert sind, die alle als C-Quellen in Betracht kommen könnten, ergeben natürlich kein eindeutiges Resultat, ebenso scheiden die zahlreichen Versuche mit Extrakten und Abkochungen aus Naturprodukten, deren Zusammensetzung nicht oder nur wenig bekannt ist, von Anfang an für unsere Betrachtungen aus. Doch auch die Methode, eine bestimmte Substanz der synthetischen Nährlösung zuzusetzen und aus der Förderung, die diese Kultur gegenüber einer rein autotroph ernährten erfährt, auf die Aufnahme des organisch gebundenen Kohlenstoffs zu schließen, hat keine Beweiskraft, solange die CO_2 -Assimilation nicht ausgeschaltet ist. Die Förderung kann ja auf Nebenwirkungen der organischen Substanz wie Konzentrationserhöhung, Veränderung oder Pufferung der H-Ionenkonzentration, Entgiftung der Nährlösung oder ähnlichem beruhen. Überdies ist die Schätzung von Unterschieden in der Wachstumsintensität nach dem Augenmaß sehr unsicher und auch bei Zählung der Zelldichte in gewissen Grenzen nicht beweisend, da die Vermehrung in synthetischen Nährlösungen oft unter gleichen Bedingungen ziemlich beträchtliche Schwankungen zeigt. Die CO_2 -Assimilation durch Dunkelstellen der Kulturen zu verhindern ist auch nicht unbedingt zu empfehlen. Ein positives Resultat ist wohl hier für den Nährwert der zugesetzten organischen Substanz beweisend, ein negatives kann aber auch mit dem Ausfall des Lichtes als formativen Faktor oder mit anderen durch den Ausfall des Lichtes hervorgerufenen Nebenwirkungen zusammenhängen. Ganz eindeutig sind nur Versuche in CO_2 -freiem Raum im Licht mit Kontrollen unter sonst gleichen Bedingungen in gewöhnlicher Luft. Die einzige unbeabsichtigte Veränderung, die der CO_2 -Entzug in der Nährlösung zur Folge hat, ist eine schwache Steigerung des pH-Wertes, die man jedoch durch Verwendung des primären Phosphats vermindern kann und die in den meisten Fällen keine Rolle spielt. Die Versuche wurden so angesetzt, daß eine größere Anzahl von Kulturröhrchen auf Gestellen zusammen mit einem Schälchen mit konzentrierter Lauge unter eine Glocke gebracht wurden, die gegen die Unterlage mit Luftpumpenfett abgedichtet wurde. Die Glocke wurde einen Tag lang verdunkelt, bis die letzten Reste der Kohlensäure absorbiert waren und dann der gleichen Lichtquelle ausgesetzt wie die Kontrollen. Wenn man sicher gehen will, kann man die Abwesenheit der Kohlensäure durch eine mit eingeschlossene Indikatorlösung ständig kontrollieren, doch war der Ausfall der Versuche stets so eindeutig, daß darauf verzichtet werden konnte.

Absolute Bakterienfreiheit der Kultur ist natürlich von der größten Wichtigkeit, da die von Mikroorganismen ausgeatmete Kohlensäure zur Ernährung der Euglenen in dem infizierten Röhrchen dienen könnte.

ZUMSTEIN (l. c.) glaubte, daß Zitronensäure eine gute C-Quelle für *Euglena gracilis* sei, TERNETZ (l. c.) wies dies als Irrtum nach, hielt aber in Übereinstimmung mit ZUMSTEIN Glukose, ferner noch Maltose, Saccharose, und Mannit (in schwächerem Maße sogar Zimt- und Chinasäure!) für gute C-Quellen für *Euglena gracilis*, was sie aus der von ihr gesehenen Förderung des Wachstums bei Zusatz zu synthetischen Nährlösungen schloß. PRINGSHEIM (1912) fand bei Glukosezusatz keine Förderung, sondern sogar Hemmung der Vermehrung, apfel-, wein- und zitronensaure Salze förderten ein wenig bei Zusatz zu Agarkulturen. Alle genannten Autoren sind jedoch darin einig, daß „Eiweißkörper“ (Fleischextrakt, Pepton) nicht nur zur N-, sondern auch zur C-Beschaffung für *Euglena gracilis* geeignet sind, da damit ja auch in Dunkelkulturen reichliches Wachstum zu erzielen war.

Zunächst seien die Versuche mit Fett- und Oxysäuren im CO₂-freien Raum mitgeteilt. Die Säuren wurden in Form von Salzen in 0,1proz. Lösung geboten unter Zusatz von 0,05 Proz. (NH₄)₂SO₄, 0,02 Proz. KH₂PO₄ und 0,01 Proz. MgSO₄.

	Essig- saurer Na	Propion- saurer Na	Butter- saurer Na	Milch- saurer Ca	Apfel- saurer K	Zitronen- saurer Na	Wein- saurer K
<i>Euglena gracilis</i>	++	—	—	++	—	—	—
<i>E. viridis</i>	—	—	—	—	—	—	—
<i>E. pisciformis</i>	—	—	—	—	—	—	—
<i>E. deses</i>	—	—	—	—	—	—	—
<i>E. minima</i>	—	—	—	—	—	—	—
<i>E. Klebsii</i>	—	—	—	—	—	—	—
<i>E. mucifera</i>	—	—	—	—	—	—	—
<i>Colacium vesiculosum</i>	—	—	—	—	—	—	—
<i>Phacus pleuronectes</i>	++	—	—	—	—	—	—

Die geprüften organischen Säuren sind also für die zu den Versuchen verwendeten Eugleninen als C-Quellen fast durchwegs ungeeignet, nur *Euglena gracilis* zeigt mit Essigsäure schwaches Wachstum. Da auch dieses nicht bei allen Parallelkulturen gleichmäßig zu beobachten war, muß es als zweifelhaft bezeichnet werden. Entschieden kann von einem gedeihlichen Fortkommen von *Euglena gracilis* mit Essigsäure nicht die Rede sein. Sie zeigte in einem Versuch auch mit Milchsäure, *Phacus pleuronectes* einmal mit Essig-

säure eine ganz schwache Vermehrung, die jedoch auch nicht als beweisend für den Nährwert dieser Substanzen bezeichnet werden kann. TREBOUX (1905) behauptet, mit essigsäurem und buttersäurem Kalium sehr starke Vermehrung von *Euglena viridis* in Dunkelkulturen erzielt zu haben, was in Widerspruch zu unseren Ergebnissen steht. Er hat mit 40 verschiedenen Algenarten gearbeitet, die er alle in absoluten Reinkulturen gezüchtet haben will, obwohl sich darunter Arten befinden, deren Kultivierung auf große Schwierigkeiten stößt und teilweise erst in jüngster Zeit oder noch gar nicht gelungen ist. Wie er alle diese Arten reinkultiviert hat, gibt er nicht an. Es ist schwer erklärlich, welcher Versuchsfehler die starke Vermehrung von *Euglena viridis* in Dunkelkulturen zur Folge gehabt haben kann, da das Vorhandensein von CO₂-bildenden Bakterien im Dunkeln ja keine Veränderung des Resultates bewirken würde. Man müßte zu der Annahme greifen, daß seine Kulturen durch andere Algen verunreinigt waren, die sich im Dunkeln auf Kosten organischer Stoffe vermehren können. Auf jeden Fall müssen TREBOUX's Ergebnisse als sehr zweifelhaft bezeichnet werden.

In den CO₂-freien Versuchen mit Zuckern und Alkoholen wurden diese in 0,1–0,5 proz. Lösungen verwendet unter Zusatz der anorganischen Salze.

	Glukose	Saccharose	Mannit	Glycerin
<i>Euglena gracilis</i>	±	—	—	—
<i>E. viridis</i>	—	—	—	—
<i>E. pisciformis</i>	—	—	—	—
<i>E. deses</i>	—	—	—	—
<i>E. minima</i>	—	—	—	—
<i>E. Klebsii</i>	—	—	—	—
<i>E. mucifera</i>	—	—	—	—
<i>Colacium vesiculosum</i>	—	—	—	—
<i>Phacus pleuronectes</i>	—	—	—	—

Nur *Euglena gracilis* zeigt mit Glukose schwaches Wachstum, sonst sind die geprüften Kohlehydrate für alle untersuchten Arten als C-Quellen vollkommen unbrauchbar. Die Meinung ZUMSTEIN's und TERNETZ's von dem hohen Nährwert dieser Verbindungen trifft also nicht zu.

Sehr klare Ergebnisse lieferten die Versuche mit Aminosäuregemischen und Eiweißabbauprodukten im CO₂-freien Raum. Es wurden zu den Versuchen verwendet: *Euglena gracilis*, *E. viridis*, *E. deses*, *E. pisciformis*, *E. minima*, *E. Klebsii*, *E. intermedia*, *E. stellatu*, *E. anabaena* var. *minor* und var. *minima*, *E. mucifera*, *E. velata*,

E. olivacea, *Colacium vesiculosum* und *Phacus pleuronectes*, sowie zur Kontrolle *Chlamydomonas umbonata*. Geprüft wurden Erepton 0,25 Proz., das aus Pepton hergestellte vollkommene Abbaugemisch, Trypsin-Pepton, Trypsin-Gelatine, Liebig's Fleischextrakt 0,25 Proz. und Käseabkochung, stets mit Zusatz von 0,02 Proz. KH_2PO_4 und 0,01 Proz. MgSO_4 . *Euglena gracilis* zeigt in allen diesen Lösungen sehr gutes, *Colacium vesiculosum* und *Phacus pleuronectes* gutes Wachstum, bei allen anderen geprüften Eugleninen bleibt die Impfmasse zwar am Leben, vermehrt sich aber nicht. In 0,1 Proz. Pepton zeigt *Euglena gracilis* schwaches, *Colacium* und *Phacus* sehr schwaches, alle anderen gar kein Wachstum. Aus den Versuchen geht eindeutig hervor, daß diese drei Eugleninen befähigt sind, ihren C-Bedarf aus Aminosäuren zu decken, *Euglena gracilis* außerdem durch peptolytische Fermente Peptide zu Aminosäuren in geringem Maße abzubauen imstande ist und daher auch mit Eiweißkörpern kümmerlich fortkommt. Alle anderen untersuchten Euglenen haben auffallenderweise diese Eigenschaften nicht. Schon ZUMSTEIN (l. c.) betont unter Berufung auf die KHAWKINE'schen Ergebnisse den Unterschied zwischen *Euglena viridis*, die sich offenbar nicht C-heterotroph ernähren könne und seiner *Euglena gracilis* mit der Fähigkeit zu vollkommen heterotropher Ernährung, ohne allerdings selbst exakte Beweise dafür zu liefern. In der Folgezeit wurden jedoch die Ergebnisse mit *Euglena gracilis* in der Literatur oft ohne Bedenken auf alle übrigen Euglenen mit Unrecht ausgedehnt.

Versuche, *Euglena gracilis* und die übrigen Arten mit Glykokoll, Leucin und Asparagin oder synthetischen Gemischen einzelner Aminosäuren im CO_2 -freien Raum zu ernähren, schlugen fehl, wahrscheinlich infolge der schon S. 371 erwähnten schädlichen Nebenwirkungen der Reagentien.

Außer den CO_2 -freien Versuchen wurden auch Dunkelkulturen der oben aufgezählten Eugleninen in Erepton, dem vollkommenen Abbaugemisch und Fleischextrakt angesetzt. Nur *Euglena gracilis* zeigt im Dunkeln mit diesen Substanzen gutes, *Colacium vesiculosum* nur sehr schwaches, die übrigen Arten, auch *Phacus pleuronectes* gar kein Wachstum. Bei *Colacium* und besonders bei *Phacus* scheint also das Licht als formativer Faktor eine lebenswichtige Rolle zu spielen. *Euglena gracilis* zeigt im Dunkeln Verblässen der Chromatophoren, worauf wir später noch zurückkommen werden. Im Dunkeln beträgt ihre Vermehrung nach einigen Zählungen nur $\frac{1}{3}$ — $\frac{1}{6}$ der Vermehrung im Licht und in gewöhnlicher Luft. Im CO_2 -freien Raum bei Licht ist sie etwas schlechter als in CO_2 -haltiger Luft

doch besser als im Dunkeln. Auch bei *Euglena gracilis* spielt also das Licht eine, wenn auch geringe Rolle als Wachstumsfaktor. TERNETZ (l. c.) gibt an, daß sich die Euglene in Dunkelkulturen viel intensiver teilt als im Licht und belegt dies mit Messungen der Teilungsrate. Dies trifft wohl für die erste Zeit einer frisch geimpften Kultur zu, später macht sich aber der Mangel des Lichtes so bemerkbar, daß die Dunkelkultur niemals einen so reichen Zuwachs am Ende einer längeren Versuchsdauer aufweist, wie die entsprechenden Lichtkulturen im CO_2 -freien Raum. Und nur diese Endwerte des Zuwachses sind es, die in allen unseren Versuchen zum Vergleich herangezogen und als Maßstab verwendet wurden. In der Dunkelkultur bleibt *Euglena gracilis* fast unbegrenzt lange im lebhaft schwärmenden Zustand, was von TERNETZ und PRINGSHEIM auch schon hervorgehoben wurde, während sie in älteren Lichtkulturen teilweise in den palmelloiden Zustand übergeht, besonders bald im CO_2 -freien Raum.

Im Gesamtstoffwechsel der Euglenen müssen bedeutend mehr N-freie als N-haltige Stoffe verarbeitet werden, schon wegen der Bildung des N-freien Reservestoffes Paramylon und wegen der Atmung, die wohl ausschließlich auf Kosten N-freier Verbindungen erfolgt. Bei rein heterotropher Ernährung mit Aminosäuregemischen muß daher der größte Teil der Aminosäuren bei Aufnahme in den Stoffwechsel desamidiert werden, nur der geringe Teil, der in den Eiweißstoffwechsel eingeht, bleibt „unverändert“. Die N-haltigen Restprodukte der Desamidierung müssen sich dabei in der Außenlösung ansammeln. Dies ist auch tatsächlich der Fall, wie sich durch Messung der H-Ionenkonzentration zeigen läßt. Zu den Versuchen wurden Dunkelkulturen von *Euglena gracilis* verwendet, da die Kulturflüssigkeit im CO_2 -freien Raum schon durch den CO_2 -Entzug einen höheren p_{H} -Wert aufweist, als die Kontrollen in gewöhnlicher Luft. Der p_{H} -Wert einer Ereptonlösung steigt durch 4 Wochen lange Kultur von *Euglena gracilis* im Dunkeln von 5,8 auf 7,0, im Licht beträgt er nach der gleichen Zeit 5,7. Während die Flüssigkeit der Lichtkultur nur eine kaum wahrnehmbare Neßlerreaktion gibt, ist diese bei der Dunkelkultur sehr stark. Es wird also die Desamidierung der Aminosäuren bei Überführung in den C-Wechsel so vorgenommen, daß Ammoniak übrig bleibt, der sich mit der aus der Luft stammenden Kohlensäure zu dem alkalisch reagierenden Ammoniumkarbonat verbindet. Im CO_2 -freien Raum werden natürlich noch höhere Grade der Alkalinität erreicht und darauf dürfte es wohl auch beruhen, daß die Euglenen hier so bald in den pal-

melloiden Zustand übergehen und die Entwicklung nicht ganz so gut ist wie im Licht bei Anwesenheit von Kohlensäure. Daß trotzdem die Entwicklung im CO_2 -freien Raum noch besser ist, als im Dunkeln, ist ein besonders überzeugender Beweis für die Wichtigkeit des Lichtes als Wachstumsfaktor. Die Desamidierung der Aminosäuren erfolgt wahrscheinlich durch einen Oxydationsprozeß. Es können dabei nach Befunden aus dem tierischen Stoffwechsel Oxy- und Ketonsäuren entstehen (HAMMARSTEN 1922). Auch die Entstehung von Ketoaldehyden wurde behauptet, scheint jedoch durch neuere Ergebnisse widerlegt zu sein. Die Weiterverwendung von Ketonsäuren im C-Wechsel dürfte nicht schwierig sein, wie z. B. die nahen Beziehungen der Brenztraubensäure bzw. ihres Aldehyds zu Glukose bei der Hefegärung zeigen.

Daß bei Anwesenheit von Kohlensäure im Licht keine alkalische Reaktion auftritt und kein Ammonium nach NESSLER nachzuweisen ist, ist weiter ein Beweis dafür, daß *Euglena gracilis* die Aminosäuren als C-Quellen überhaupt nicht angreift, solange ihr die Möglichkeit der CO_2 -Assimilation geboten ist, sondern sie dann nur als N-Quelle ausnützt. Die Meinung von ZUMSTEIN und TERNETZ, daß die CO_2 -Assimilation der Euglene viel größere Schwierigkeiten bereitet, als die heterotrophe Assimilation des Kohlenstoffs und daher nur im Notfalle durchgeführt wird, beruht also nicht auf Richtigkeit. Es verhält sich vielmehr umgekehrt so, daß die Gewinnung des Kohlenstoffs aus Aminosäuren nur dann stattfindet, wenn die Möglichkeit der CO_2 -Assimilation nicht besteht.

Dies ist eine interessante Parallele zu den Verhältnissen im N-Wechsel. Auch der organisch gebundene Stickstoff wird offensichtlich erst dann ausgenützt, wenn kein anorganischer zur Verfügung steht (S. 373 f.). Man muß also *Euglena gracilis*, *Colacium* und *Phacus* als nur fakultativ heterotrophe Organismen in bezug auf den N- und C-Wechsel bezeichnen, alle übrigen untersuchten grünen Eugleninen als fakultativ heterotroph im N-Wechsel, dagegen als obligat autotroph im C-Wechsel.

Es ist anzunehmen, daß nicht nur die Euglenen, sondern auch andere Algen, sofern sie nicht obligat autotroph sind, ein ähnliches Auswahlvermögen bei der Assimilation des N und des C unter verschiedenen Kulturbedingungen haben. Alle möglichen Zwischenstufen von der obligaten Autotrophie mancher grüner bis zur obligaten Heterotrophie der farblosen Algen sind hier denkbar. Leider sind die bisherigen Untersuchungen, die diese Fragen hätten klären können, fast durchwegs von anderen Gesichtspunkten aus

durchgeführt und tragen infolge ihrer vieldeutigen Versuchstechnik nur sehr wenig zu deren Beantwortung bei. Es wäre zu wünschen, daß auch andere Algengruppen einer exakten ernährungsphysiologischen Untersuchung womöglich mit Hilfe quantitativer Analysen zugeführt würden. Die Verwendung der Begriffe „mixotroph“ und „heterotroph“ erfordern, wie schon früher erwähnt, dringend einer Revision. Die Ansicht, daß es obligat „mixotrophe“ grüne Algen gebe, ist bisher durch keine exakten Ergebnisse gestützt, doch ist deren Existenz durchaus möglich. Endlich sei nochmals darauf hingewiesen, daß die in der Ökologie gebräuchlichen Bezeichnungen „katharob“, „oligo-, meso- und polysaprob“ nur rein ökologische Begriffe sind und über die Ernährungsphysiologie nichts aussagen.

Mit den vorliegenden Ergebnissen an zahlreichen *Euglena*-Arten stehen die Resultate von CUNNINGHAM und HEARNE (1924) in Widerspruch, die behaupten, daß *Euglena tripteris* nicht nur obligat heterotroph ist, sondern sogar von Kohlensäure geschädigt wird. Obwohl mir die Reinkultur dieser Art nicht gelang und ich daher keine Versuche mit ihr ausführte, glaube ich doch durch Analogie mit dem Verhalten der anderen Arten schließen zu dürfen, daß diese Ergebnisse nicht zuverlässig sind. Da die Kulturen nicht bakterienfrei waren, handelte es sich in den Versuchen der genannten Autoren um keinen CO₂-Ausschluß. Überdies wurden die Einflüsse der H-Ionenverhältnisse von ihnen nicht genügend berücksichtigt.

C. Paramylonbildung.

Mit der Frage der heterotrophen Ernährung stehen die Versuche über Paramylonbildung aus organischen Substanzen im engsten Zusammenhang. Ohne hier auf die reichhaltige Literatur über Stärkebildung bei Algen aus organischen Stoffen einzugehen, sei nur bemerkt, daß es denkbar ist, daß eine organische Substanz zur Aufrechterhaltung des Stoffwechsels, auch des C-Wechsels, zwar geeignet ist, ohne daß es aber bei der Ernährung mit dieser Substanz zur Ablagerung stärkeartiger Reservestoffe kommen muß. Dagegen ist es sehr unwahrscheinlich, daß eine Alge aus einer organischen Substanz Stärke oder Paramylon bilden kann, ohne diesen Stoff auch als C-Quelle im Stoffwechsel ausnützen zu können, wenn auch vielleicht nur auf dem Umweg über den Wiederabbau der gebildeten Reservestoffe.

Die wichtigste Voraussetzung dieser Versuche ist die Erzielung von vollkommen entstärrtem Zellmaterial, was bei vielen Algen ohne

weitgehende Schädigung nur schwer oder gar nicht gelingt. Bei Euglenen bewirkt Aushungerung durch Entzug der N-Quelle, der anorganischen Salze oder Verhinderung der CO_2 -Assimilation in den meisten Fällen nicht den vollständigen Abbau des Paramylons. Es wurde versucht, Euglenen durch Überführung aus Agar- oder Flüssigkeitskulturen in destilliertes Wasser oder stark verdünnte Nährlösungen und durch Impfung in inkomplette Nährlösungen auszuhungern. Diese Versuche schlugen jedoch alle fehl. Ebenso gelang es nicht, Kulturen in Erdabkochung, Fleischextrakt oder synthetischen Nährlösungen durch Verdunklung paramylonfrei zu bekommen. In allen diesen Fällen starben die Zellen ab, ohne daß das Paramylon vorher vollkommen verbraucht worden wäre, oder es wurden Dauercysten gebildet. Den vollkommenen Abbau der Reservestoffe erreicht man nur dann, wenn sich die Zellen im Zustand sehr intensiver Vermehrung befinden, dadurch schon arm an Reservestoffen sind und dann plötzlich durch Verdunklung an der CO_2 -Assimilation verhindert werden, ohne daß sich die anderen die rasche Vermehrung veranlassenden Faktoren ändern. Dies erzielt man am besten bei frischen Impfungen in Ereptonlösungen, in denen bei Verdunklung nach zwei bis vier Tagen das Paramylon oft vollständig geschwunden ist, ohne daß die Schwärmfähigkeit der Zellen gelitten hätte. Am besten geeignet für die Beurteilung der Frage, ob das Paramylon in der Zelle wirklich ganz verbraucht und ob die Paramylonbildung gerade wieder begonnen hat, erwiesen sich die Euglenenarten mit beschalteten Pyrenoiden, da die Paramylonschalen an den Pyrenoiden durch die lokalisierte und scharf umrissene Form ihrer Ablagerung auch dann gut zu sehen sind, wenn sie sehr dünn sind. Es wurde daher zu den Versuchen *E. anabaena* var. *minor* gewählt. (Siehe Fig. 3 u. 4 im I. Teil dieser Arbeit!) Außerdem erschien es aber noch notwendig, die ernährungsphysiologisch von den anderen Arten so weit abweichende *Euglena gracilis* zu prüfen. Bei dieser Art führen die Versuche mit Erepton natürlich nicht zum Ziel, da sie sich ja auch im Dunkeln mit Aminosäuren ernähren kann und daher im Erepton Paramylon bildet. Ein fast vollständiger Schwund des Paramylons wird bei dieser Art durch Verdunklung junger Impfungen in Erdabkochung erreicht (Taf. 10 Fig. 1 im I. Teil!). Nur ein Teil der Zellen führt noch wenige kleine Paramylonkörner im Plasma, die Pyrenoide sind ganz von Reservestoffen befreit. Allerdings gelingt es nicht, die Fettröpfchen und Volutinkörner, die oft im Euglenenkörper als Reservestoffe auftreten, durch die Verdunklung zum Verschwinden zu bringen, doch sind diese mikroskopisch mit Paramylon

nicht zu verwechseln. Die Versuche wurden weiter so durchgeführt, daß das paramylonfreie Schwärmermaterial mittels Zentrifugierens unter aseptischen Bedingungen gewaschen und mit der Pipette in die zu prüfenden Lösungen eingetragen wurde. Die organischen Substanzen wurden in Konzentrationen von 1 Proz. und unter Zufügung der notwendigen anorganischen Salze im Dunkeln verwendet. Die Resultate waren in mehreren Parallelversuchen übereinstimmend:

	Erepton	Essig-saures Na	Glukose	Sac-charose	Zitronen-saures Na	Mannit	Glycerin	Methylal ¹⁾
<i>Euglena gracilis</i>	+++	++	++	—	—	—	—	—
<i>E. anabaena</i> var. <i>minor</i>	—	—	—	—	—	—	—	—

+++ bedeutet sehr starke, ++ starke, — gar keine Speicherung von Paramylon.

Die Versuche wurden 2, 6 und 14 Tage nach der Überführung der Euglenen in die Lösungen kontrolliert und es zeigte sich, daß *E. gracilis* in Erepton, von dem es sich gut zu ernähren vermag, sehr viel, doch auch in Glukose und essigsauerm Na ziemlich viel Paramylon bildet. Die Zellen sehen dabei ganz gesund aus und schwärmen lebhaft (Taf. 10 Fig. 2 im I. Teil!). Dies war nicht zu erwarten, da die Vermehrung mit Glukose und Acetat nur eine sehr geringe ist und diese Stoffe daher nur einen sehr beschränkten Nährwert zu besitzen scheinen. Die daraufhin unternommene Wiederholung der Versuche, *Euglena gracilis* mit den beiden Substanzen unter Verwendung von Ammonium- oder Nitratstickstoff im CO₂-freien Raum zu ernähren, ergaben kein günstigeres Resultat als früher. Auch wenn man Erepton als N-Quelle bietet, aus dem die Euglene schon sowieso ihren C-Bedarf decken kann, bewirkt ein Zusatz von Glukose oder essigsauerm Na keine Steigerung des Wachstums. Es ist denkbar, daß Glukose und Essigsäure in den normalen Stoffwechselablauf, der zum Aufbau der Körpersubstanzen führt, nicht aufgenommen werden können, daß aber wohl aus ihnen Paramylon gebildet wird, das dann erst wieder abgebaut werden muß, um den C-Wechsel zu versorgen, und daß deshalb die Ernährung mit diesen beiden organischen Stoffen nur unzulänglich vor sich gehen kann. In allen übrigen Lösungen kam es bei *Euglena gracilis* nicht zur Bildung von Paramylon und *Euglena anabaena* als Vertreter der C-autotrophen Euglenen konnte überhaupt aus keinem der geprüften Stoffe Paramylon bilden, obwohl

¹⁾ Eine Substanz, die leicht Formaldehyd abspaltet und mit der Bokorny (1888) Stärkebildung bei Algen erzielt haben will.

fast in allen Lösungen die Zellen schwärmend und lange am Leben blieben. Nur Glycerin scheint eine direkt schädigende Wirkung zu haben.

D. Die Ernährung von *Astasia ocellata*.

PRINGSHEIM (1921) hat die Stoffwechselphysiologie von *Astasia* weitgehend aufgeklärt und nachgewiesen, daß die Meinung KHAWKINE'S (1885), die Alge ernähre sich von Stärke und ihren Abbauprodukten, auf Irrtum beruht, daß sie vielmehr nur in Eiweißabbauprodukten gut fortzukommen vermag. Ich konnte den größten Teil seiner Ergebnisse vollauf bestätigen. Mit der absoluten Reinkultur von *Astasia*, die ich durch Plattenguß erzielte und mit Erfolg in 2 proz. Fleischextrakt und $\frac{1}{100}$ n-Essigsäure weiterzüchtete, wurden eine Reihe von Versuchen zur weiteren Klärung der Ernährungsphysiologie dieser interessanten farblosen Euglene ausgeführt. Den in der Tabelle angeführten Lösungen wurde stets noch 0,02 Proz. KH_2PO_4 und 0,01 Proz. MgSO_4 zugesetzt.

	Ohne Säurezusatz	Zusatz von $\frac{1}{100}$ — $\frac{1}{200}$ n Essigsäure
Essigsäures Na 0,2 Proz., Glykokoll 0,2 Proz.	—	—
Buttersäures Na 0,2 Proz., Glykokoll 0,2 Proz.	—	—
Glukose 0,5 Proz., Glykokoll 0,2 Proz.	—	—
Stärkekleister 0,2 Proz., Glykokoll 0,2 Proz.	—	—
Glycerin 0,5 Proz., Glykokoll 0,2 Proz.	—	—
Gelatine 1 Proz.	—	±
Pepton 1 Proz.	±	±
Trypsin-Gelatine 1,5 Proz.	±	++
Trypsin-Pepton 1,5 Proz.	±	+
Vollkommenes Peptonabbauprodukt	+	+++
Erepton 2 Proz.	++	+++
Asparagin 1 Proz.	—	—
Glykokoll 0,4 Proz., Leucin 0,07 Proz., Glutaminsäure 0,2 Proz., Arginin 0,1 Proz.	—	—

Aus der Tabelle geht deutlich hervor, daß von allen geprüften Substanzen nur Aminosäuren geeignet sind, den Stoffwechsel von *Astasia* aufrecht zu erhalten und daß die eiweißhaltigen Flüssigkeiten desto bessere Nährstoffe darstellen, je vollständiger sie zu Aminosäuren abgebaut sind, am besten das nur aus Aminosäuren bestehende Erepton. Daß einzelne chemisch isolierte Aminosäuren und deren Gemisch nicht zur Ernährung geeignet sind, dürfte wieder auf den S. 371 geschilderten Ursachen beruhen. Ob peptolytische Fermente vorhanden sind, ließ sich nicht entscheiden, da *Astasia* auf Agar und Gelatine nicht zur Vermehrung zu bringen ist. Nach den schlechten

Kulturerfolgen mit Pepton und Gelatine ist das Vorhandensein der Enzyme unwahrscheinlich.

Wir haben also in *Astasia* einen reinen „Aminosäure-Organismus“ vor uns, der nur dort zu leben vermag, wo durch langsame Zersetzung organischer Körper Aminosäuren frei werden. Daß *Astasia* in der Natur nur an Standorten vorkommt, wo Pflanzenstoffe sich zersetzen, beruht auf ihrer großen Empfindlichkeit gegen alkalische und ihrer Vorliebe für saure Reaktion, die schon PRINGSHEIM nachgewiesen hat. WERMEL (1924) fand *Astasia* und *Menoidium* in Gewässern mit einem p_H -Wert von 3,2—4,0! Ich machte die Erfahrung, daß junge Impfungen in geeigneten neutralen Nährlösungen besser anwachsen und sich im Anfang besser vermehren, als in der gleichen mit Essigsäure angesäuerten Lösung. Dagegen ist in der sauren Lösung die Lebensdauer der Astasien länger und ihre Vermehrung bei längerer Kulturdauer viel stärker. Dies hängt mit der Art der Verarbeitung der Aminosäuren zusammen, die die gleiche ist, wie bei *Euglena gracilis* in Dunkelkultur (S. 379 f.). Messungen ergaben in 2proz. Ereptonlösungen, die vorher zur Vermeidung von Störungen durch die gelbe Farbe mit Tierkohle entfärbt worden waren, ein Ansteigen des p_H -Wertes von 5,9 auf 7,0 nach einer Kulturdauer von 6 Wochen. Ammoniumverbindungen ließen sich mit NESSLER in reichem Maße nachweisen. Die Aufnahme der Aminosäuren in den C-Wechsel geschieht also auch hier durch Desamidierung unter Ausscheidung von Ammoniak. Durch diesen wird nun die Nährlösung immer stärker alkalisch, was für die Astasien schädlich ist. Die vorherige Ansäuerung der Lösung verhindert die Erreichung höherer p_H -Werte und verbürgt daher der Kultur eine längere Lebensdauer und stärkeres Wachstum. Als Anfangsreaktion der Nährlösung ist dagegen eine dem Neutralpunkt mehr genäherte als optimal zu betrachten. Die optimale Gesamtkonzentration der Nährlösung liegt bei *Astasia* bei 1,5—2 Proz., also ungefähr zehnmal so hoch als bei grünen Euglenen. Die von PRINGSHEIM angegebene Vorliebe für höhere Temperaturen (25—30°) konnte ich bestätigen. Die Kulturen zeigen dabei eine viel raschere Vermehrung, haben dagegen keine so lange Lebensdauer wie bei gewöhnlicher Zimmertemperatur.

Astasia Dangeardii und *Menoidium incurvum* wurden in Speziesreinkultur in Erd-Käse-Röhrchen mit Erfolg kultiviert, konnten aber nicht von Bakterien befreit werden. Sie verhalten sich, soweit dies mit den unreinen Kulturen festgestellt werden konnte, genau so wie *Astasia ocellata* und scheinen daher auch ausschließlich an die Verarbeitung von Aminosäuren angepaßt zu sein.

II. Der Einfluß von äußeren Faktoren auf Wuchsform und Reservestoffe.

Den Komplex der Wirkungen äußerer physikalischer und chemischer Faktoren auf das Verhalten der Eugleninen übersichtlich darzustellen, ist äußerst schwierig, da eine Unzahl gelegentlicher Einzelbeobachtungen darüber in der Literatur vorliegen, ohne daß es in den meisten Fällen möglich wäre, die jeweilige Konstellation aller in Betracht kommenden Außenfaktoren aus den oft mangelhaften Beschreibungen zu rekonstruieren und so zu einer befriedigenden Analyse der beobachteten Erscheinungen zu kommen. Im folgenden will ich mich daher hauptsächlich auf eigene Beobachtungen beschränken. Einiges wurde ja schon in dem allgemeinen Kapitel über das Verhalten der Euglenen in Kulturen gesagt. Für die Festlegung der Begriffe ist es wichtig auf die Irrtümer hinzuweisen, die dadurch entstanden sind, daß manche Autoren die palmelloide Wuchsform vieler Eugleninen als „Cysten“ oder „Encystierung“ beschrieben haben, andere wieder den schwärmenden Zustand als „Zoosporen“ bezeichnen und so die beiden bei Euglenen gleichwertig vorkommenden Wuchsformen in ganz unzutreffender Weise mit Zuständen von ganz bestimmter entwicklungsgeschichtlicher und physiologischer Dignität bei anderen Algen homologisiert haben. Dauercysten gibt es ja bei Euglenen auch, diese lassen sich aber stets leicht von der palmelloiden Wuchsform unterscheiden. Als Zoosporen könnte man die schwärmenden Zellen nur dann bezeichnen, wenn man den palmelloiden Zustand als den primären ansieht, was wohl gegen die allgemeine Auffassung vom Charakter der Flagellaten in Widerspruch steht.

Ob eine Euglene im schwärmenden oder im palmelloiden, bzw. metabolischen Zustand wächst, hängt zunächst von der Konsistenz des Nährmediums und der Konzentration der gelösten Stoffe ab. Schon KLEBS (1883) beobachtete reiche Vermehrung von *Euglena viridis* im palmelloiden Zustand auf ausgekochtem Torf, der mit synthetischer Nährlösung befeuchtet war. Auf der Agaroberfläche und im Agar bilden *Euglena gracilis*, *E. viridis*, *E. pisciformis*, *E. minima*, *E. stellata*, *E. anabaena* var. *minor* und var. *minima*, *E. reticulata* und *Colacium vesiculosum* palmelloide Verbände aus mehr oder weniger abgerundeten Zellen mit dünnen oft verschleimten Membranen. Die Zellen von *Euglena deses* kontrahieren sich auf dem Agar zu einer kurzen Spindelform und führen träge metabolische Bewegungen aus, während *Euglena Klebsii* auf der Agarfläche, ja sogar in der Agarmasse leb-

haft metabolisch herumkriecht¹⁾. Die großen Euglenenarten *Euglena olivacea*, *E. velata*, *E. oblonga*, *E. mucifera* und *Astasia ocellata* sind zur Bildung palmelloider Wuchsformen nicht befähigt und bilden unter ungünstigen Konsistenzverhältnissen des Substrates nur kontrahierte Zellen mit Schleimmembranen ohne sich weiter zu teilen. *Euglena intermedia* behält ihre starke metabolische Beweglichkeit auf der Agaroberfläche nicht bei, sondern bildet verkürzte spindelförmige Zellen, die sich nicht mehr oft teilen. Die starren Euglenenformen, sowie *Phacus pleuronectes* und *Menoidium* verlieren auf festen Substraten die Geißel, ohne ihre Körperform zu verändern oder sich zu teilen. Eine hohe Konzentration der Nährstoffe in Flüssigkeitskulturen beeinträchtigt die Schwärmfähigkeit und erleichtert den Übergang in den palmelloiden oder metabolischen Zustand, während stark verdünnte Lösungen die Neigung zum Schwärmen steigern. Hier verhalten sich die untersuchten Arten auch wieder untereinander verschieden. *Euglena reticulata* neigt stets sehr stark zum Übergang in den palmelloiden Zustand, weniger schon *Euglena viridis* und *E. minima*, während *E. gracilis* und besonders *Astasia* noch in hochkonzentrierten Lösungen zu schwärmen vermag. Nach YASUDA (1899) kann *Euglena viridis* noch Lösungen von 15 Proz. Rohrzucker oder 2,4 Proz. Kalisalpeter aushalten, zeigt dann allerdings schon starke Degenerationserscheinungen.

Extrem hohe und extrem niedrige Temperaturen bewirken den Übergang in die palmelloide Wuchsform, besonders dann, wenn sie plötzlich eintreten. Die Angaben der Literatur, daß Euglenen vorübergehendes Einfrieren ohne Schädigung überstehen können, konnte ich nicht bestätigen. Kulturen von *Euglena gracilis*, *E. viridis* und *E. deses*, deren Flüssigkeit ganz oder teilweise gefroren war, konnten nicht mehr zum Leben erweckt werden, auch dann nicht, wenn sie Dauercysten enthielten. Vielleicht wechselten die Temperaturen im Experiment zu unvermittelt. Durch niedere Temperaturen (0–4°) konnte auch *Euglena deses* zur Ausscheidung einer dünnen Membran und Dauercystenbildung aus allen Zellen der Kultur veranlaßt werden, während sie sonst nur ganz ausnahmsweise und vereinzelt in sehr alten Kulturen Cysten liefert. Bei Wiedererwärmung schlüpfen die Euglenen sofort unter starken metabolischen Bewegungen wieder aus den Häuten aus. Den Einfluß der Temperatur auf die metabolischen Bewegungen von *Euglena deses* studierte BRACHER (1919).

¹⁾ Bei diesen beiden Arten entspricht der Zustand der metabolischen Beweglichkeit dem palmelloiden Zustand der früher genannten Arten.

Euglena Klebsii und *E. intermedia* bilden auch bei tiefen Temperaturen keine behäuteten, sondern nur spindelförmig verkürzte unbewegliche Zellen. Ob es bei diesen Arten in der Natur je zur Ausbildung echter Dauercysten kommt, ist nicht zu entscheiden.

Einen wesentlichen Einfluß auf die Art der Wuchsform hat die H-Ionenkonzentration der Lösung, und da ist wieder vor allem der plötzliche Wechsel der Reaktion von besonderer Bedeutung. BOLTE führt in ihrer wertvollen Arbeit (1920) auch die chemokinetische Wirkung der Kohlensäure wohl mit Recht nur auf die H-Ionen zurück. Ich konnte wiederholt feststellen, daß bei plötzlicher Einwirkung von Säure oder von Lauge die Geißel sofort abgeworfen wird und die Euglenen sich metabolisch zu bewegen beginnen, worauf dann meist ein Übergang in den palmelloiden Zustand erfolgt. War der Sprung der H-Ionenkonzentration nicht groß und sind die Bedingungen der Vermehrung günstig, so wird bald wieder die Geißel regeneriert. Bei allmählicher Verschiebung der Reaktion gegen die Extreme kann die Schwärmfähigkeit lange erhalten bleiben, so schwärmt *Euglena gracilis* in synthetischer Nährlösung, deren p_{H} -Wert durch den Verbrauch des NH_4 -Ions bis unter 4,0 gesunken ist, noch lebhaft weiter, während ein plötzlicher Sprung des p_{H} -Wertes von 6,8 auf 6,0 sie zum sofortigen Übergang in den palmelloiden Zustand bringt. Überhaupt zeigt sich bei allen Versuchen, die zur Aufklärung dieser Zusammenhänge angestellt wurden, und bei gelegentlichen Beobachtungen, daß ein gewisses Trägheitsmoment eine große Rolle spielt, das die Euglenen veranlaßt, die Wuchsform, die sie gerade haben, beizubehalten, wenn nicht ein plötzlicher Wechsel der Außenbedingungen eine Änderung hervorruft. Auch starke Veränderungen gewisser Außenbedingungen gehen oft spurlos an ihnen vorüber, wenn sie ganz allmählich erfolgen. Dieses Trägheitsmoment zeigt sich bei Übertragung von Euglenen vom Agar in Nährlösung, wobei sie oft die palmelloide Wuchsform beibehalten, während bei Übertragung von schwärmenden Zellen aus einer Flüssigkeitskultur in die gleiche Lösung die Schwärmfähigkeit vollkommen erhalten bleibt.

Es seien Versuche mitgeteilt, die sich auf den Einfluß der H-Ionen und gewisser anderer Ionen auf die Schwärmfähigkeit von *Euglena gracilis* und *Astasia ocellata* beziehen. Sie wurden so durchgeführt, daß die lebhaft schwärmenden Zellen aus gut wachsenden Ereptonkulturen abzentrifugiert, wiederholt mit destilliertem Wasser gewaschen und dann mit der Pipette in die zu prüfenden Lösungen in gleichen Mengen eingetragen wurden. Dabei verlieren bei

Euglena gracilis die meisten, bei *Astasia* alle Individuen infolge des plötzlichen Wechsels der Außenbedingungen die Geißel, bilden sie aber dort, wo Schwärmen eintritt, binnen weniger Stunden wieder neu aus. Die Schwärmfähigkeit der Aufschwemmung wurde nach 5, 24 Stunden und 2 Tagen untersucht. Nach mehr oder weniger langer Zeit wird das Schwärmen eingestellt, und die Zellen zeigen die durch Hunger hervorgerufenen Degenerationserscheinungen. Die Versuche wurden bei diffusum Tageslicht ausgeführt.

	<i>Euglena gracilis</i>	<i>Astasia ocellata</i>	
		ohne Zusatz	mit Ca-Zusatz
Doppelt dest. Wasser	+	±	++
K ₂ HPO ₄ 0,01 Proz.	+	±	++
Leitungswasser	—	++	
Essigsäure 1/100 n	—	—	—
1/1000 n	+++	±	++
1/10000 n	+++	±	++
Salzsäure 1/100 n	—	—	—
1/1000 n	—	±	+++
1/10000 n	±	±	+++

Es bedeutet: +++ alle, ++ fast alle, + viele, ± wenige, — gar keine Zellen der übertragenen Aufschwemmung im schwärmenden Zustand.

Es zeigt sich, daß *Euglena gracilis* in destilliertem Wasser, das sauer reagiert, sowie in neutralen bis schwach sauren Lösungen gut schwärmt, daß dagegen die alkalische Reaktion des Leitungswassers schon das Schwärmen verhindert. Daß die Essigsäure eine so ausgezeichnete Wirkung auf die Schwärmfähigkeit hat, beruht, wie der Vergleich mit Salzsäure zeigt, nicht auf den H-Ionen, sondern ist eine spezifische Wirkung dieses Stoffes, der ja auch ernährungsphysiologisch eine gewisse Bedeutung hat. In Aminosäuregemischen, die die besten Nährstoffe darstellen, ist ja auch eine besonders starke Neigung zum Schwärmen bei allen Eugleninen zu beobachten. *Astasia* zeigt einen interessanten Zusammenhang zwischen Schwärmfähigkeit und Vorhandensein des Ca-Ions. Sie schwärmt daher im kalkhaltigen Leitungswasser sehr gut. Vorausgesetzt, daß Ca anwesend ist, ist eine schwache Ansäuerung für sie ein ausgezeichnetes Reizmittel zum Schwärmen, wobei es sich nur um eine Wirkung der H-Ionen handelt, nicht um spezifische Wirkungen einzelner Säuren. Bei Beobachtung des Schwärmens in verschiedenen Säuregraden und in verschiedenen Zeitabständen von der Übertragung der Schwärmer an gerechnet, zeigte sich eine interessante Regel. Kurze Zeit nach der Übertragung schwärmen in der schwächsten

Konzentration die meisten Zellen, nach einiger Zeit hat hier die Schwärmfähigkeit nachgelassen und das Optimum des Schwärmens ist in der nächst höheren Konzentration zu sehen, nach längerer Zeit hat sich das Optimum in eine noch höhere Konzentration verschoben, in der zuerst fast alle Zellen in Ruhe waren. Es scheint, daß die Wirkung der Säure zeitlich in einer Optimumkurve verläuft, wobei aber eine desto längere Gewöhnungszeit der Erreichung des Optimums vorausgeht, je höher der Säuregrad ist. Wechselnde pH -Verhältnisse haben auch auf die Schwärmtätigkeit tierischer Spermatozoiden großen Einfluß, wie GASCHOTT (1925) für das Forellensperma nachwies.

Zusammenfassend kann man sagen, daß plötzliche Veränderungen der H-Ionenkonzentration meist den Übergang in den palmelloiden Zustand zur Folge haben, daß bestimmte H-Ionenkonzentrationsstufen für das Schwärmen günstig sind und daß gewisse Ionen dabei eine Reizwirkung ausüben. Im übrigen zeigen die Euglenen die Neigung, die Wuchsform, in der sie sich gerade befinden, beizubehalten, sofern sie nicht ein plötzlich einwirkender äußerer Reiz zur Änderung der Wuchsform zwingt. Dabei spielt der innere physiologische Zustand der Zellen eine große Rolle. Sind sie in lebhafter Vermehrung begriffen und arm an Reservestoffen, so zeigen sie starke Neigung zum Schwärmen, so z. B. in Erepton und Fleischextrakt. Ist dagegen die Vermehrung nur mäßig und enthalten die Zellen viel Paramylon, so gehen sie leicht in palmelloide Zustände über und sind nur schwer wieder zum Schwärmen zu bringen, so in synthetischen Nährlösungen und in Agarkulturen. POPOFF und PASPALEFF (1924/25) haben den stimulierenden Einfluß einer großen Anzahl von anorganischen und organischen Stoffen in sehr starken Verdünnungen auf *Euglena gracilis* untersucht und dabei gefunden, daß fast alle von ihnen verwendeten Substanzen, die den verschiedensten chemischen Gruppen angehören, bei vorübergehender Einwirkung die Euglenen zum Ausschwärmen aus dem Palmellenstadium veranlassen. Die Verfasser bezeichnen den palmelloiden Zustand fälschlich als „Encystierung“ und sehen in ihm irrtümlich einen durch Nahrungsmangel hervorgerufenen Depressionszustand, während unter bestimmten Bedingungen der palmelloide Zustand die normale Wuchsform der *Euglena gracilis* und vieler anderer Euglenen darstellt. Inwieweit die Methodik dieser Stimulationsversuche zuverlässig ist, läßt sich aus den spärlichen Angaben darüber nicht ersehen. Auf jeden Fall scheint es sich um keine spezifische Wirkung bestimmter Verbindungen zu handeln, da die

Stoffe mit Stimulationswirkung chemisch zu stark verschieden sind. Es genügt vielleicht die vorübergehende Einwirkung beliebiger, nicht gerade schädigender Ionenmengen, um Euglenen in einem gewissen physiologischen Zustand zum Ausschwärmen zu bringen.

Ein wichtiger Faktor wurde bisher nicht erörtert, das Licht. Auch hier zeigt sich keine Wirkung in bestimmtem Sinne, sondern der plötzliche Wechsel zwischen Licht und Dunkelheit und umgekehrt kann sowohl Übergang in den palmelloiden als auch Übergang in den schwärmenden Zustand hervorrufen. So kann man z. B. in Kulturen, die im Licht nur Palmellen zeigen, meist durch Verdunklung sofortiges Schwärmen hervorrufen. Dagegen gelingt es auch, die Zellen einer Aufschwemmung von *Euglena gracilis* in destilliertem Wasser, die durch 4 Tage lange Verdunklung unbeweglich geworden waren, durch Wiederbelichtung noch nach drei Wochen wieder zum Schwärmen zu bringen. Das Schwärmen wird also einmal durch Verdunklung, einmal durch Belichtung bewirkt. Auch hier spielt der physiologische Zustand der Zellen eine große Rolle. Mit Reservestoffen angefüllte Zellen werden im allgemeinen durch Verdunklung, ausgehungerte Zellen durch Belichtung zum Schwärmen veranlaßt.

BOLTE (1920) hat sich eingehend mit der Photokinesis verschiedener Flagellaten befaßt und gibt u. a. für zwei *Phacus*- und eine *Lepocinclis*-Art negative Photokinesis an (also Verlängerung der Schwärmfähigkeit durch Verdunklung). Dasselbe haben übereinstimmend TERNETZ (l. c.), PRINGSHEIM (1912) und der Verfasser bei *Euglena gracilis* in Reinkulturen beobachtet, wo im Dunkeln in Erepton und Fleischextrakt die Schwärmfähigkeit fast unbegrenzt erhalten bleibt. Ich möchte hierin nicht unbedingt nur eine direkte Wirkung des Lichtes sehen, sondern die Erscheinung auch damit erklären, daß es bei heterotropher Ernährung im Dunkeln niemals zu plötzlichen p_H -Schwankungen und zu öfterem Wechsel der Belichtungsintensität kommt, während am Licht durch den Wechsel von Tag und Nacht und die damit verbundene intermittierende CO_2 -Assimilation die beiden Faktoren ununterbrochenen Schwankungen ausgesetzt sind, was die Zellen in alternden Kulturen zum Übergang in den palmelloiden Zustand veranlaßt. Daß BOLTE (l. c.) für *Euglena gracilis* gerade das Gegenteil angibt, nämlich längere Schwärmdauer im Licht, beruht wohl auf Nebenwirkungen unkontrollierbarer Vorgänge in ihren Rohkulturen. Ob die Wirkungen des Lichtes auf die Wuchsform nicht überhaupt so zustande kommen, daß die bei Belichtung stattfindende CO_2 -Assimilation den p_H -Wert

der Lösung erhöht und umgekehrt ihre Sistierung bei Verdunklung ihn erniedrigt und auf diese Weise eigentlich die p_H -Schwankungen die Ursachen der formativen Veränderungen sind, muß unentschieden bleiben. Auf direkten oder indirekten Wirkungen des Lichtes beruht auch der eigentümliche periodische Wechsel zwischen Schwärmer- und Palmellenstadien, der sehr oft im Laufe eines Tages in gut wachsenden Kulturen vieler Euglenen, besonders *Euglena viridis*, zu sehen ist. Wenn die künstliche Lichtquelle, an der sämtliche Versuche ausgeführt wurden, am Morgen entzündet wird, sind die Euglenen alle im schwärmenden Zustand, nach einigen Stunden setzen sie sich an der Wand des Röhrchens, wo sie phototaktisch angesammelt sind, fest und werden metabolisch und endlich palmelloid, ohne aber Membranen auszuschleiden. Nach dem Verlöschen der Lampe am Abend verlassen sie bald wieder den Ruhezustand, um in schwärmende Bewegung überzugehen. Dieser periodische Wechsel wiederholt sich Tag für Tag durch längere Zeit, bis die Euglenen beim Altern der Kultur nach und nach ganz in den palmelloiden Zustand übergehen. Mit dem Zellteilungsrythmus hat diese Erscheinung nichts zu tun, da sich die Euglenen in derartig reagierenden Kulturen, wenn sie in dauernde Belichtung gebracht werden, ständig im palmelloiden Zustand weiterteilen, bei dauernder Verdunklung dagegen ganz im schwärmenden Zustand verharren und trotzdem noch durch einige Tage Zellteilungen aufweisen.

Außer der photokinetischen kommt dem Licht noch eine formative Wirkung auf einzelne Zellorgane zu, besonders auf die Chromatophoren. Diese stellen überhaupt ziemlich labile Organellen vor, die in ihrer Größe und Gestalt von verschiedenen äußeren Faktoren beeinflußt werden. Beim Übergang in den palmelloiden Zustand kontrahieren sie sich bei den meisten Arten, in stark verdünnten oder zu hoch konzentrierten Lösungen, bei Schädigung durch mechanischen Druck oder hohe Temperaturen (KLEBS 1883), Vitalfarbstoffe oder Gifte wie Chloroform (TERNETZ l. c.) zeigen sie Kontraktion oder auch Zerfall in Teilstücke. Auch die H-Ionenkonzentration scheint Einfluß auf ihre Zahl und Form zu haben (BAKER 1926). Sehr starke Belichtung oder Verdunklung rufen ebenfalls Kontraktion der Chromatophoren hervor. In Dunkelkulturen erscheinen sie dann durch die Verdichtung besonders lebhaft grün gefärbt.

Bei *Euglena gracilis* hat die Verdunklung eine besondere Wirkung auf die Chromatophoren, die man mit dem Bleichwerden beim Etiolement höherer Pflanzen vergleichen kann, vorausgesetzt, daß

der Euglene Gelegenheit geboten wird, sich heterotroph zu ernähren. Die Chromatophoren blassen dabei aus, werden gelblich-grün und endlich ganz hellgelb, so daß sie sich von dem übrigen Zellkörper gar nicht mehr abheben. Daß sie dabei das Chlorophyll vollständig verlieren, zeigt der Ausfall der Absorptionslinien des Chlorophylls im Spektrum von alkoholischen Extrakten der Farbstoffe aus etiolierten Euglenen (PRINGSHEIM und MAINX 1926). ZUMSTEIN, TERNETZ und PRINGSHEIM haben diesen merkwürdigen Vorgang bei *Euglena gracilis* genau studiert. Bei allen übrigen von mir untersuchten Arten, auch bei den C-heterotrophen *Colacium* und *Phacus pleuronectes*, konnte ich ähnliche Erscheinungen durch Verdunklung nicht erzielen, PRINGSHEIM hat jedoch eine kleine *Phacus*-Art bei Anwesenheit von Eiweißabbauprodukten fast farblos werden sehen (1921). *Euglena gracilis* ließ sich durch 2 Jahre im Dunkeln in der „etiolierten“ Form weiterzüchten, ohne Schaden zu leiden. Auch nach so langer Zeit traten bei Wiederbelichtung innerhalb eines Tages die ersten Spuren des Chlorophylls auf, und in 3 Tagen war die Kultur von einer gewöhnlichen Lichtkultur nicht mehr zu unterscheiden. TERNETZ (l. c.) gibt an, daß bei ihrem Stamm die Wiederergrünung der „hyalinen Dunkelform“ viel langsamer erfolgte. Außerdem hat sie aber noch eine überaus interessante Beobachtung gemacht, die leider bisher von keinem anderen Autor wiederholt werden konnte. Es ist dies das Auftreten der „hyalinen Lichtform“, d. h. einer apoplastiden *Euglena gracilis*, die in ihren Kulturen sprungweise erschien, auch am Licht nie mehr ergrünte, die phototaktische Empfindlichkeit verloren hatte und so ganz einer *Astasia* gleich. Sie beobachtete ihre Entstehung durch Aufspaltung aus einer „Zwischenform“, die vollkommen apoplastide und grüne Nachkommen lieferte. Sie ging dabei wiederholt von einem einzigen Individuum der „Zwischenform“ aus, so daß eine Verunreinigung durch *Astasia* wohl ausgeschlossen erscheint. Dagegen glaube ich, daß in den Versuchen BOLTE's (1920) die farblose lichtbeständige „*Euglena hyalina*“ eine in den Rohkulturen mit *Euglena gracilis* vergesellschaftete *Astasia* ist und nicht mit der grünen *Euglena gracilis* zusammenhängt. Dafür spricht auch ihr indifferentes Verhalten gegen photokinetische Einflüsse. Die „hyaline Lichtform“ konnte von TERNETZ durch Jahre in eiweißhaltigen Lösungen weiterkultiviert werden, ohne zurückzuschlagen. TERNETZ hat in ihren Kulturen auch Euglenen mit abnorm niedriger Chromatophorenzahl (ein, zwei und drei Plastiden) beobachtet und hält daher die Entstehung der apoplastiden Form durch „Allorhythmie“, d. h. durch eine Störung

der Korrelation zwischen der Zell- und der Chromatophorenteilungsintensität für sehr wahrscheinlich. PRINGSHEIM (1912 u. 1921) hat mit verschiedenen Stämmen von *Euglena gracilis* gearbeitet, ohne jemals das Auftreten apoplastider Formen zu sehen, ich habe mit mehreren neu isolierten, sowie mit dem mir von Herrn Prof. SENN in Basel zur Verfügung gestellten Stamm experimentiert, von dem allerdings nicht sicher ist, ob er mit dem seinerzeit von TERNETZ gebrauchten identisch ist. Obwohl ich die Versuchsbedingungen nach allen Richtungen variierte, auch die von TERNETZ verwendeten Nährlösungen wiederholt prüfte, konnte ich niemals apoplastide Formen finden. Auch Individuen mit abnorm niedriger Chromatophorenzahl traten nicht auf. Da die TERNETZ'sche Arbeit sehr gewissenhaft durchgeführt erscheint, kann man an eine Täuschung durch Versuchsfehler wohl nicht glauben und nur annehmen, daß die Hemmung der Chromatophorenteilungsintensität, die zur Entstehung der apoplastiden Formen führte, auf einer mutativen Veränderung beruhte, die damals gerade bei ihrem Stamm aufgetreten und seither nicht mehr zur Beobachtung gelangt ist. Für die Entstehung neuer Arten wäre diese Mutation (nach H. PRINGSHEIM 1910 wäre sie als vererbare Fluktuation zu bezeichnen) von der größten Bedeutung. Man könnte sich die Entstehung farbloser Parallelreihen aus grünen Algenformen auf diese Weise vorstellen. TERNETZ tritt aus diesen Gründen dafür ein, die Gattung *Astasia* überhaupt fallen zu lassen und mit *Euglena* zu vereinen. Sie stützt sich dabei auf Beobachtungen KLEBS' (1883), der gelegentlich farblose Individuen der verschiedensten *Euglena*-, *Phacus*- und *Trachelomonas*-Arten gesehen haben will. Ich glaube, daß es sich hier um die Beobachtung einzelner Individuen mit stark degeneriertem Zellinhalt handelte, die vielleicht von Parasiten befallen waren, wobei das Chlorophyll vor dem Absterben der Zelle ganz schwindet oder auch um gelegentliche Verwechslungen mit *Astasia*. Farblose Formen bekannter grüner Eugleninen wurden später nie mehr gesehen und die bekannten *Astasia*-Arten und sonstigen farblosen Eugleninen sind morphologisch sehr gut definiert und stehen in keinem offenkundigen Zusammenhang mit bekannten grünen Arten. Wenn TERNETZ auch das mutative Auftreten einer apoplastiden Form beobachtet hat, so liegt noch immer keine Berechtigung vor, diese einfach einer *Astasia* gleichzusetzen oder umgekehrt. Trotz der Ähnlichkeit im physiologischen Verhalten zwischen *Euglena gracilis* und *Astasia ocellata*, bestehen doch zwischen den beiden noch viele ernährungs- und reizphysiologische Unterschiede, die eine Unterscheidung der

beiden Arten noch möglich machen würde, wenn auch *Euglena gracilis* keine Chromatophoren besäße. Daß die TERNETZ'sche Euglene mit dem Verlust der Chromatophoren auch ihre ganzen physiologischen Eigenschaften in die einer *Astasia* umgewandelt hätte, ist wohl sehr unwahrscheinlich. Immerhin ist anzunehmen, daß die Astasien in ihrer Phylogenie durch Plastidenverlust mono- oder polyphyletisch aus grünen Formen hervorgegangen sind, doch stellen sie heute eine morphologisch und physiologisch so weit selbständige Gruppe dar, daß ihre Bezeichnung als eigene Gattung wohl berechtigt erscheint.

Äußere Faktoren haben auf die Art und Menge der Reservestoffe bestimmenden Einfluß. Der wichtigste Reservestoff, das Paramylon, wird besonders dann in reicher Menge abgelagert, wenn die Bedingungen der Zellteilung nicht günstig sind, die CO₂-Assimilation dagegen ungehindert vor sich gehen kann. Die Intensität der Zellteilung scheint nun vor allem unter sonst gleich günstigen Bedingungen von der Art der N-Quelle abzuhängen. Ist diese leicht assimilierbar, wie z. B. Aminosäuregemische, so teilen sich die Zellen sehr rasch, in synthetischen Nährlösungen langsamer, tritt N-Mangel ein, so wird die Vermehrung sehr stark gehemmt. Dies scheint in alten Erdabkochungskulturen der Fall zu sein, die von Anfang an wenig Stickstoff enthalten und in denen stets große Paramylonmengen gebildet werden, die in dem N-reichen Fleischextrakt- und in Aminosäuregemischen niemals zu sehen sind. Verschiebung der H-Ionenkonzentration gegen die Extreme wirkt ebenfalls ungünstig auf die Teilungsintensität, daher enthalten ältere Kulturen in synthetischen Nährlösungen oft sehr paramylonreiche Zellen, besonders wenn die Lösungen alkalisch werden. Abbau des Paramylons tritt dann ein, wenn die Teilungsintensität groß ist oder wenn die C-Assimilation verhindert wird, am sichersten wenn beide Faktoren zusammenwirken. Daß durch Hunger allein der vollkommene Abbau von größeren Paramylonmengen meist nicht erzielt werden kann, besonders nicht bei älteren schon etwas degenerierten Zellen, wurde schon erwähnt. ZUMSTEIN (1900) gibt eine Zusammenstellung der Bedingungen, unter denen er bei *Euglena gracilis* den Abbau des Paramylons — allerdings nicht ausnahmslos — konstatieren konnte: 1. während der Keimung der Dauercysten, 2. bei Verdunklung von Lichtkulturen, 3. bei Wiederbelichtung von Dunkelkulturen (infolge der Steigerung der Teilungsintensität!), 4. bei Überführung aus neutralen Flüssigkeiten in verdünnte Säurelösung (vielleicht infolge erhöhten Energieverbrauchs durch die in

schwach sauren Medien gesteigerte Schwärmfähigkeit, siehe S. 389 f.). Seine Resultate stimmen also mit unseren überein.

Das Verhalten der Euglenen in den Kulturen kann man leicht auf zwei Faktorenkomplexe zurückführen, von denen der eine die Zellteilungsintensität, der andere die Assimilationsgröße regelt. Sind die Bedingungen für beide Vorgänge günstig, so entstehen gesunde gut wachsende Kulturen mit wenig Reservestoffen. Ist die Teilungsintensität gehemmt, die Assimilation dagegen nicht, häufen sich die Reservestoffe in so starkem Maße an, daß die Lebensfähigkeit der Zellen darunter leiden kann und nach Übertragung in neue Nährlösung oft keine Erholung mehr möglich ist. Herrscht Nährstoffmangel und sind die Bedingungen der Teilung dabei günstig, so entstehen abnorm kleine verhungert aussehende Zellen ohne Reservestoffe, die aber ziemlich lebenszäh sind. Zur Bildung von Dauerzellen kommt es in Kulturen nur selten, besonders die mit Paramylon stark vollgestopften Zellen scheinen dazu gar nicht mehr fähig zu sein. Die Cystenbildung scheint mehr von physikalischen Faktoren, wie Austrocknung und niederen Temperaturen ausgelöst zu werden, als durch Nährstoffmangel oder irgendwelche Korrelationsstörungen in der Zelle.

Einige Euglenenarten wie *Euglena sanguinea* und *E. rubida* führen stets in ihren Zellen zahlreiche Fettröpfchen, die durch Hämochrom, ein Gemisch zweier Karotine (ZOPF 1895, KUTSCHER 1898), rot gefärbt sind. Man hat nun wiederholt beobachtet, daß auch bei anderen sonst bis auf den Augenfleck rein grünen Euglenen unter ungünstigen Außenbedingungen solche rote Fettröpfchen auftreten können und hat vielfach in dem Hämochrom die Zersetzungsprodukte des durch die Schädigung zerstörten Chlorophylls gesehen (ZUMSTEIN, TERNETZ). Diese Annahme ist wohl kaum aufrecht zu erhalten, da Hämochrom auch bei Algen auftritt, die gar kein Chlorophyll besitzen, wie *Polytoma uvella* (PRINGSHEIM u. MAINX 1926). Außerdem entsteht es bei Euglenen gerade unter Bedingungen, die das Chlorophyll nicht schädigen, in großen Mengen, dagegen beim vollständigen Schwund des Chlorophylls in Dunkelkulturen von *Euglena gracilis* nur in geringem Maße. Immerhin könnte ein Zusammenhang mit dem Chlorophyll bestehen, vielleicht in der Art, daß beim Vorhandensein von Fettröpfchen im Plasma Zwischenprodukte des Chlorophyllaufbaues oder Abbaues von diesen abgefangen und gespeichert werden, während sie sich sonst in der Zelle nicht anhäufen. Das Hämochrom hat offenbar die gleichen Entstehungsbedingungen wie die Fettröpfchen selbst, da sich ungefärbtes Fett

in Euglenen niemals findet. Die Frage nach den Ursachen der Hämochrombildung ist zugleich die nach der Entstehung des Fettes. REICHENOW (1909) hat es sehr wahrscheinlich gemacht, daß Stickstoffvielleicht auch Phosphormangel die Ursachen für das Auftreten des Hämochroms sind, obwohl seine Kulturmethode noch viel zu wünschen übrig ließen. Seine Beobachtung, daß *Euglena sanguinea* den größten Teil ihres Hämochroms verliert, wenn man sie in N-reiche Nährlösung bringt, konnte ich bestätigen. (Doch glaube ich, daß seine Beschreibung einer hämochromreichen und ganz chorophyllfreien *Euglena sanguinea* auf Irrtum beruht.) In alten Kulturen in Erdabkochung, in der der Stickstoff bald verbraucht ist, konnte ich ähnlich wie PRINGSHEIM bei allen untersuchten Eugleninen stets große Hämochrommassen feststellen, ebenso aber auch bei Verdunklung, bei extremer Verschiebung der H-Ionenkonzentration, bei Schädigung durch zu hoch konzentrierte Nährlösungen oder bei extremen Temperaturen, und zwar auch dann, wenn genügend Stickstoff zugegen war. Ich möchte daher in dem Auftreten des Fettes und des Hämochroms Wirkungen von Stoffwechselstörungen verschiedener Art sehen, wobei allerdings die Unterbindung oder Störung des N-Stoffwechsels die Hauptrolle zu spielen scheint. Das Fett möchte ich als einen unter abnormen Bedingungen statt des Paramylons gebildeten Reservestoff auffassen, welche Rolle es ja auch in den Cysten spielt und wahrscheinlich auch bei *Haematococcus*. Werden hämochromreiche Zellen wieder unter günstige Lebensbedingungen gebracht, so bauen sie das Fett ab, wobei auch das Hämochrom verschwindet.

Bei den roten Euglenenarten ist das hämochromhaltige Fett offenbar zur normalen Form der Stoffspeicherung neben dem Paramylon geworden. Außerdem kann es hier wohl auch eine Schutzwirkung gegen zu starke Belichtung ausüben. Bei *Euglena sanguinea*, die mit Vorliebe an der Oberfläche sehr stark besonnener Gewässer vorkommt, ist diese Lichtschutzwirkung des Hämochroms schon oft behauptet worden (KLAUSENER 1908). Dafür spricht nicht nur der verschieden starke Hämochromgehalt der Euglenen zu verschiedenen ungleich hellen Jahreszeiten, sondern vor allem eine direkte Beziehung der Hämochromtröpfchen zum Licht, die den bisherigen Untersuchern entgangen zu sein scheint. Es wurde schon wiederholt beobachtet, daß die Haut, die *Euglena sanguinea* oft an der Oberfläche des Wassers bildet, am Abend oder bei Beschattung grün aussieht, bei direkter Besonnung dagegen rot. Dieser Farbenwechsel wird nun durch eine Verlagerung der Hämochromtröpfchen hervor-

gerufen, die sich direkt unter dem Mikroskop verfolgen läßt. Bringt man einige Zellen aus einer grün aussehenden Euglenenhaut unter das Deckglas, so sieht man das Hämochrom in einem dichten Klumpen im Inneren der Zelle zusammengeballt, so daß die Chromatophoren frei liegen. Bald beginnen sich nun unter dem Einfluß der starken Belichtung unter dem Mikroskop einzelne Hämochromtröpfchen aus dem Ballen zu lösen und an die Oberfläche der Zelle zu wandern, während die Zellen aus ihren Häuten ausschlüpfen und metabolisch beweglich werden. In kurzer Zeit ist der zentrale Hämochromballen ganz aufgelöst und in Form kleiner Tröpfchen unter der Körperoberfläche verteilt. Die Wanderung der Hämochromtröpfchen erfolgt sehr rasch, ruckweise und scheinbar in vorgebildeten Flüssigkeitskanälchen. Zellphysiologisch ist diese Erscheinung äußerst interessant und wohl schwer zu erklären. Bei Beschattung vorher stark belichteter Zellen erfolgt gerade so rasch die Wanderung der Tröpfchen nach dem Inneren. Eine ähnliche Verlagerung der Farbstoffkörnchen unter dem Einfluß des Lichtes konnte GICKLHORN (1921) bei dem Zoochlorellen führenden *Stentor igneus* beobachten. Auch hier könnte der Farbstoff als Lichtschutz für die Zoochlorellen aufgefaßt werden.

Daß auch Volutin als Reservestoff in Euglenen vorkommt, hat SASSI (1907) gezeigt.

Im Anschluß an die vorhergehenden Betrachtungen über die Wirkungen äußerer Faktoren auf Wuchsform und Reservestoffe der Euglenen, sei kurz die Frage der Symbiosen und des Parasitismus berührt, die für einige Eugleninen beschrieben sind. So hält es SCHILLER (1925) für wahrscheinlich, daß die Colacien und die Crustaceen, auf deren Panzer sie regelmäßig sitzen, einander Nutzen bringen. Er glaubt, daß die Crustaceen sich teilweise von den Colacien ernähren, von ihnen durch Beschattung geschützt und mit Sauerstoff versehen werden, während die Algen sich von ihren Wirten in neue Wassermengen und in gutes Licht tragen lassen. Ohne diese Wechselbeziehungen leugnen zu wollen, glaube ich doch, daß das symbiontische Verhältnis nur sehr locker und sozusagen zufällig ist. Daß Colacien in der Kultur, auch in synthetischen Nährlösungen, gut fortkommen, beweist, daß sie auf die Crustaceen nicht angewiesen sind. Einige Versuche zeigten sogar, daß sie nicht einmal imstande sind, ihre Wirte aktiv aufzusuchen. Versuche, in einer Aufschwemmung von schwärmenden *Colacium*-Zellen eine chemotaktische Reaktion gegen lebende oder zerdrückte Cyclopiden oder Bosminen festzustellen, fielen ganz negativ aus. Nach zweijähriger Kultur im

Laboratorium wurden nun in eine lebhaft schwärmende Kultur von *Colacium* einige Exemplare einer *Cyclops*-Art eingetragen. Im Verlauf von 3 Tagen waren diese sehr stark mit Colacien besetzt, ganz wie in der Natur. Die Colacien suchen aber die Crustaceen mangels einer chemotaktischen Empfindlichkeit nicht aktiv auf, sondern setzen sich an ihnen nur dann fest, wenn sie gerade, durch äußere Faktoren veranlaßt, in den pallmelloiden Zustand übergehen. In der gleichen Dichte wie auf den Krebsen sind sie dann auch an den Wänden des Kulturröhrchens und an kleinen Holzstückchen zu sehen, die in die Lösung gebracht worden sind, wie ja auch in der Natur nicht nur die Crustaceen, sondern auch Pflanzen und andere feste Körper von ihnen besiedelt erscheinen. Der Epiphytismus der Colacien auf den Crustaceen ist also ein rein zufälliger, womit nicht geleugnet werden soll, daß die „Symbiose“ für beide Partner von Vorteilen begleitet ist. Daß andere Eugleninen niemals auf den Panzern der Krebse zu finden sind, beruht darauf, daß ihre Festsetzung allmählich unter langsamen metabolischen Bewegungen erfolgt und sie daher von den schnell beweglichen Tieren abgestreift werden, wenn sie zufällig auf sie zu sitzen kommen, während die Festsetzung von *Colacium* durch plötzliche Ausscheidung einer großen Menge von klebrigem Schleim am Vorderende erfolgt, und es ihnen daher gelingt an den Crustaceen festzuhaften.

Farblose Eugleninen, die in Rotatorien und Rhabdocölen als Parasiten (vielleicht nur Raumparasiten?) leben, sind schon seit längerer Zeit bekannt (HASWELL 1907, BEAUCHAMP 1911), ebenso eine parasitische Astasie in den Ovarien von Cyclopiden (ALEXEIEFF 1912). Neuerdings wurden auch Eugleninen entdeckt, die im Darm von Kaulquappen parasitieren. Außer farblosen Formen mit 6—7 Geißeln (BRUMPT u. a. 1924) hat man auch grüne mit drei Geißeln gefunden, sowie Übergangsformen (HEGNER 1923, WENRICH 1923). Das physiologische Verhalten dieser Arten in Kultur zu untersuchen, wäre eine lohnende Aufgabe. In Kaulquappen von *Rana esculenta* konnte ich niemals irgendwelche Eugleninen entdecken. In solchen von *Pelobates fuscus* dagegen waren stets eine Menge von Exemplaren der verschiedensten *Euglena*-, *Phacus*-, *Lepocinclis*- und *Trachelomonas*-Arten zu finden. Es handelte sich zweifellos nur um gefressene Algen, die aber auffallenderweise fast keine Spuren einer Schädigung zeigten. Noch im Enddarm findet man oft durch Geißelbewegung schwärmende Individuen von *Euglena spirogyra* und metabolisch bewegliche von *E. Klebsii*. Auch den Darmkanal von Copepoden sah ich verschiedene Euglenen ungeschädigt passieren, ein Zeichen

für die große Resistenz der Pellicula. Irgendwelche besonderen, sicher parasitischen Formen waren leider auch bei *Pelobates* nicht zu finden.

III. Taxien.

Die Untersuchung der chemotaktischen Empfindlichkeit bei Eugleninen erschien im Zusammenhang mit dem Studium ihrer Ernährungsphysiologie von Bedeutung, besonders bei den heterotrophen Arten *Euglena gracilis* und *Astasia ocellata*. PFEFFER (1888) sah chemotaktische Reaktionen bei „*Euglena hyalina*“ (einer *Astasia*), hat aber keine weiteren Versuche mit ihr angestellt, da sie sich zu leicht festsetzte. Bei „*Astasia proteus* STEIN“, *Euglena viridis*, *E. oxyuris*, *Phacus longicauda* und *Trachelomonas hispida* konnte er keine Empfindlichkeit feststellen. Der einzige, der sich ausführlich mit den chemotaktischen Reizerscheinungen von *Euglena gracilis* beschäftigte, war FRANK (1904).

Das Schwärmermaterial zu unseren Versuchen mit *Euglena gracilis* wurde so erzielt, daß junge lebhaft schwärmende Ereptonkulturen abzentrifugiert, die Euglenen dreimal mit destilliertem Wasser gewaschen und einerseits in $\frac{1}{1000}$ n Essigsäure, andererseits in destilliertes Wasser übertragen wurden. Wie schon erwähnt, schwärmen sie in Essigsäure besonders gut, doch wurde zur Vermeidung von Störungen meist mit der Aufschwemmung in Wasser gearbeitet. Euglenen aus älteren Ereptonkulturen schwärmen in den Aufschwemmungen nur träge und sind weniger empfindlich als solche aus jungen Kulturen. Um Störungen durch Nachwirkung zu vermeiden, wurden die Aufschwemmungen erst nach ein bis zwei Tagen verwendet. Die Versuchsanstellung ist ausführlich von PRINGSHEIM und dem Verf. (1926) beschrieben. Gegen das volle Tageslicht verhalten sich die Schwärmer meist negativ phototaktisch, was die Versuche erschwert. Die Aerotaxis ist dagegen wenig ausgeprägt, so daß Störungen durch diesen Faktor ausgeschlossen sind.

Zunächst ließ sich eine sehr scharfe Reaktion gegen H-Ionen feststellen. Wird $\frac{1}{20}$ n HCl geboten, so entsteht sofort eine sehr deutliche ringförmige Ansammlung um die Röhrchenmündung, die immer dichter wird und mit der allmählichen Diffusion der Säure immer mehr an die Mündung heranrückt. An den Zellen, die in die stark saure Zone hineingeraten, zeigt sich die chemokinetische Wirkung der Säure, indem sie die Geißel abwerfen und metabolisch

werden. Verwendet man im Röhrchen $\frac{1}{100}$ n HCl, so entsteht im Anfang ein enger Ring, der bald in eine Ansammlung an der Röhrchenmündung übergeht. Die Euglenen in destilliertem Wasser suchen also Säuregrade auf, die etwas schwächer als $\frac{1}{100}$ n HCl sind, von stärkeren werden sie abgestoßen, wodurch die Ringbildung zustandekommt. Die deutliche Reaktion gegen H-Ionen ließ sich auch an anderen anorganischen und organischen Säuren feststellen und ist so empfindlich, daß sie schon bei den geringsten Unterschieden in der H-Ionenkonzentration in Erscheinung tritt, was alle Chemotaxisversuche sehr erschwert. Stimmt die zu prüfende Lösung mit der Aufschwemmungsflüssigkeit in der Reaktion nicht genau überein, so bekommt man leicht eine Anlockung oder eine Abstoßung, die nur auf die Wirkung der H-Ionen zurückgeht. Unter Berücksichtigung dieses Umstandes wurden die weiteren Versuche ausgeführt.

Nur Ereptonlösungen erwiesen sich als gute Chemotaktika, sehr starke Ansammlungen bekommt man mit 2 Proz., bei 0,2 Proz. liegt die untere Schwelle der Empfindlichkeit. Die Entfernung der im Erepton enthaltenen braunen Substanzen durch Tierkohle hat keinen Einfluß auf seine Wirksamkeit. Glykokoll wirkt auch anlockend, hat aber schon bei 0,1 Mol. die Schwelle; mit Glutaminsäure, Cystin und Triglycylglycin konnte dagegen keine Reaktion erzielt werden. Essigsäures Na bewirkt in 0,1—0,01 Mol. Lösungen undeutliche Ansammlungen. Isobuttersäures Na, Äthylalkohol und Isobutylalkohol sind vollkommen unwirksam, ebenso Äther, Glukose, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ und K_2HPO_4 . Es zeigte sich also, daß *Euglena gracilis* außer durch H-Ionen nur durch gewisse Aminosäuren deutlich chemotaktisch reizbar ist, wobei sich die Wirkung der einzelnen Aminosäuren bei der Wirkung des Ereptons wahrscheinlich summiert, ferner in schwachem Maße durch essigsäure Salze. Die Beziehungen zum Stoffwechsel sind also hier deutlich. Gelegentliche Ansammlungen um Schmutzpartikel oder schlecht gereinigte Glasteile dürften wohl stets auf H-Ionenwirkung zurückgehen, ebenso die Reaktion, die PRINGSHEIM (1908) gegen Siegelack beobachtet hat. Daß er bei Glukose und anorganischen Salzen Anlockung sah, möchte ich damit erklären, daß seine Aufschwemmungsflüssigkeit schwach alkalisch war, daher neutrale Lösungen scheinbar anlockend wirkten. Wenn er Abstoßung durch Säuren gesehen hat, dürfte es sich wohl um zu hohe Konzentrationen gehandelt haben. Auch die Ergebnisse FRANK'S (1904) lassen sich mit unseren sehr gut in Einklang bringen. Auch er sah Anlockung durch Stoffe, die Aminosäuren enthalten, keine Reaktion gegen Glukose und anorganische Salze (bis auf Eisensalze?).

Ob die stark anlockende Wirkung von Zitronen- und Milchsäure, die er im Gegensatz zu anderen Säuren fand, nicht doch nur auf H-Ionen zurückgeht, müßte eine Nachprüfung zeigen. Starke Abstoßung erzielte er durch höhere Konzentrationen von Äthylalkohol und durch Ammoniak (alkalische Reaktion!). Bemerkenswert ist, daß er keinen wesentlichen Unterschied zwischen der Reaktionsfähigkeit der grünen und der etiolierten Dunkelform von *Euglena gracilis* fand.

Astasia ocellata zeigt schon in Speziesreinkulturen aus Erd-Käse-Röhrchen deutliche chemotaktische Reaktionen gegen Eiweißabbau-produkte und Säuren, ebenso stark ausgeprägte Aerotaxis. Phototaktisch ist *Astasia* und *Menoidium* nicht reizbar, im Gegensatz zu dem ebenfalls farblosen *Chilomonas*, der, trotzdem er keinen Augenfleck besitzt, doch auf Licht reagiert, was ich wiederholt bestätigt fand. Für genauere Untersuchungen wurden die schwärmenden Zellen aus Speziesreinkulturen abzentrifugiert, gewaschen und in Leitungswasser übertragen, in dem sie lebhaft beweglich bleiben. Bei den Versuchen macht sich die starke Empfindlichkeit gegen Schwankungen der Sauerstoffspannung sehr störend bemerkbar, auf die die Astasien mit großer Schnelligkeit und Genauigkeit reagieren. Sie sind scheinbar an geringe Sauerstoffmengen angepaßt, da sie sofort nach dem Bedecken des Aufschwemmungstropfens mit dem Deckglas die Mittelpartie des Präparates aufsuchen, um beim allmählichen Verbrauch des Sauerstoffs an die Ränder zu wandern, wobei sie sich stets streng in den jeweils optimalen Zonen ansammeln. Nimmt man den Tropfen aus den tiefsten sauerstoffarmen Teilen des Gefäßes, das die Aufschwemmung enthält, so wird infolge des geringeren Sauerstoffgehaltes des Tropfens gleich im Anfang eine mehr dem Rand genäherte Zone aufgesucht. MOLISCH (1926) hat gezeigt, daß bei Sauerstoffmangel die Astasien noch so geringe Sauerstoffspuren aufsuchen, daß sie als Reagens auf den bei der Assimilation grüner Algen entstehenden Sauerstoff verwendet werden können.

Astasia ocellata reagiert auch auf H-Ionen und zwar gerade so wie *Euglena gracilis* durch ringförmige Ansammlung in einer optimalen Zone. Die Schwelle war bei $\frac{1}{1000}$ n HCl, also tiefer als bei *Euglena gracilis*, was wohl darauf beruht, daß diese in dem schwach sauren destillierten Wasser, *Astasia* dagegen in dem schwach alkalischen Leitungswasser als Aufschwemmungsflüssigkeit untersucht wurde. Aminosäuren sind auch hier gute Chemotaktika, für Erepton liegt die Schwelle bei 0,01 Proz., für Glykokoll bei 0,05 Mol., für Glutaminsäure (neutralisiert) und für Asparagin bei 0,001 Mol., Tyrosin und Cystin bewirken schwache, Leucin gar keine Anlockung. Auch Fett-

säuren sind bei *Astasia* stark wirksam, so lockt essigsäures Na und isobuttersäures Na noch in Konzentrationen von 0,0001 Mol. an. Äthylalkohol hat keine Wirkung, Isobuthylalkohol lockt nur in 0,1 Mol. und stärkeren Lösungen an. Gegen oxalsäures K, Äthyläther, Glukose, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ und K_2HPO_4 verhält sich *Astasia* indifferent.

Die obligat heterotrophe *Astasia* erweist sich also bezeichnenderweise als viel stärker und in viel weiteren Grenzen chemotaktisch reizbar als die nur fakultativ heterotrophe *Euglena gracilis*. Auch bei ihr steht die Empfindlichkeit gegen gewisse Substanzen in offenkundigem Zusammenhang mit ihrer Ernährungsart. Doch sind außer den Aminosäuren, die ihre einzigen Nährstoffe darstellen, auch die den Aminosäuren nahestehenden Fettsäuren, ja in schwachem Maße sogar Isobutylalkohol wirksam, obwohl diese Substanzen für die Ernährung nicht in Betracht kommen. Noch weniger eng sind bei *Polytoma wella* die Zusammenhänge zwischen Ernährung und Chemotaxis, da diese Alge außer auf ihre Nährstoffe, die Fettsäuren, noch auf eine sehr große Zahl der verschiedensten organischen Substanzen oft sehr empfindlich chemotaktisch reagiert, die mit den Fettsäuren chemisch gar keine Ähnlichkeit haben und in der Natur niemals vorkommen (PRINGSHEIM und MAINX 1926). Die teleologische Deutung der chemotaktischen Phänomene versagt hier vollkommen. *Menoidium pellucidum* scheint sich, soweit ich aus einigen Versuchen mit Rohmaterial schließen kann, gegen Chemotaktika ähnlich zu verhalten, wie *Astasia ocellata*.

Die meisten chemotaktisch wirksamen Stoffe zeigen eine eigentümliche chemokinetische Wirkung auf die *Astasia*-Schwärmer. Diese führen in der Aufschwemmung während des Schwärmens regelmäßige metabolische Bewegungen aus, indem in gleichen Zeitabständen eine metabolische Welle vom Vorder- zum Hinterende des Körpers läuft. Sobald nun die schwärmenden Zellen in die Diffusionszone des Chemotaktikums gelangen, wird diese Bewegung sofort sistiert und zwar stets so, daß die metabolische Welle knapp vor dem Hinterende erstarrt, so daß die Zellen dann mit einem ringförmigen Wulst vor der Endspitze versehen sind, während sie sonst ungestört weiter schwärmen.

Die wenigen Individuen, die bei der Verwendung starker Lösungen in die überoptimale Zone des Chemotaktikums hineingelangen, verlieren die Geißel und werden metabolisch. Die Reaktion erfolgt stets so, daß bestimmte Konzentrationen des Chemotaktikums als optimal aufgesucht werden, so daß bei Verwendung starker Lösungen

Ringbildung entsteht. Daraus geht hervor, daß starke Konzentrationen des Chemotaktikums abstoßend wirken. Dieses Verhalten zeigen viele andere Algen nicht. So wird *Polytoma uvella* auch von starken, schon schädigenden Konzentrationen der chemotaktisch wirksamen Stoffe angelockt, niemals abgestoßen. Ich möchte die repulsive Wirkung der hohen Konzentrationen auf eine bei *Polytoma* fehlende negative Osmotaxis zurückführen, da sie auch von starken Konzentrationen sonst indifferenten Stoffe wie Glukose ausgeübt wird.

Die phototaktischen Richtungsbewegungen der grünen Euglenen waren schon öfter der Gegenstand experimenteller Untersuchungen. Die Autoren fanden übereinstimmend, daß Euglenen bald positiv bald negativ phototaktisch reagieren, oft auch indifferent sind. Daraus, daß in einem Einzelfalle die eine Euglenenart positiv, die andere negativ phototaktisch reagiert, Schlüsse auf ihre Ernährungsphysiologie zu ziehen, wie CUNNINGHAM und HEARNE (1924) es tun, ist nicht berechtigt. Außer dem inneren physiologischen Zustand der Zellen beeinflussen verschiedene äußere Faktoren die Lichtstimmung, auch Rassenunterschiede sollen hier von Bedeutung sein (FRANCÉ 1908, BUDER 1917, OLTMANN'S 1917). Für die experimentelle Prüfung dieser Wirkungen auf die Stimmung sind Euglenen nicht geeignet, da sie sich bei plötzlicher Veränderung der Außenbedingungen meist festsetzen, doch soll diese Frage an einem geeigneteren Objekt vom Verfasser demnächst bearbeitet werden. Schwärmende Zellen in alten Kulturen, die viel Reservestoffe enthalten, verhalten sich meist indifferent gegen den Lichtreiz, solche mit wenig Reservestoffen meist ausgesprochen positiv oder negativ phototaktisch. Das Zustandekommen der Lichtreaktionen wurde von JENNINGS (1910) durch „Versuch und Irrtum“ erklärt, also als phototaktische Reaktion. Dem widerspricht besonders BANCROFT (1913), der annimmt, daß die Einstellung in eine neue Richtung durch direkte Wendungen unter dem Einfluß des Reizes zustandekommen (vgl. auch ALVERDES 1923). Diese Meinung vertritt größtenteils auch BUDER und stützt sie durch zahlreiche Beobachtungen (1917). Es scheinen nach den bisherigen Untersuchungen (OLTMANN'S 1917) beide Arten der Reaktion vorzuliegen, doch müßte die Frage wohl noch experimentell durchgearbeitet werden, wobei das zuverlässige Material aus Reinkulturen mit Vorteil zu benutzen wäre.

Galvanotaxis wurde von BANCROFT (l. c.) bei Euglenen beobachtet, Thermotaxis wird von DE WILDEMAN (1894) und FRANCÉ (1893) beschrieben. Negative Geotaxis hat SCHWARZ (1884) durch sorgfältige Experimente für *Euglena gracilis* nachgewiesen. Das Aufsteigen der

Euglenen unabhängig vom Licht ist in den Kulturröhrchen wiederholt zu beobachten, ohne daß man in jedem Einzelfall ohne genauere Prüfung entscheiden kann, inwieweit etwa Unterschiede im Sauerstoffgehalt und in der H-Ionenkonzentration der Flüssigkeitsschichten in verschiedener Höhe mitwirken.

Aus dem Zusammenwirken der verschiedenen taktischen Reizerfolge kann man sich das merkwürdige Verhalten erklären, das viele Euglenen bei großen Massenansammlungen in der Natur zeigen. Die meisten Formen, die die Fähigkeit zum Wachstum in palmelloiden Verbänden haben, bilden bei starker Vermehrung die sog. Wasserblüten. Die ältesten Beobachtungen von Wasserblüten stammen nach NAUMANN (1919) von dem schwedischen Pfarrer HILDEBRANDT (1711) und von LINNÉ (1747). Ich konnte sie in typischer Ausbildung bei *Euglena sanguinea*, *E. anabaena*, *E. granulata*, *E. viridis*, *E. gracilis* und *E. pisciformis* feststellen. Die Euglenen steigen dabei in großer Zahl an die Oberfläche des Wassers und bilden dort zusammenhängende Häute aus abgerundeten oft gegeneinander abgeplatteten Zellen mit mehr oder weniger dicken zusammenhängenden Membranen. NAUMANN (1916) zählte bei *Euglena sanguinea* 300 Individuen pro mm². Die Oberfläche der Euglenenhaut ist trocken und zeigt einen samtartigen Glanz. In den Wasserblüten von *Euglena sanguinea* sah ich die Zellen meist auf hohlen Stielchen sitzen, die durch Ausstülpung aus der zwischen den Zellen befindlichen Membransubstanz gebildet werden, ähnlich wie bei den Wasserblüten von *Chromulina*. BUETSCHLI (1906) hat genauere Studien über den Bau dieser Euglenenhäute angestellt. In gut wachsenden Kulturen kommt es bisweilen bei *Euglena gracilis*, *E. viridis* und *E. anabaena* zur Bildung von Wasserblüten durch einen Teil der schwärmenden Zellen. Die seitliche oder schiefe Beleuchtung der Kulturen verhindert meist den Großteil der Zellen an die Oberfläche zu steigen. Das Zustandekommen der Wasserblüten hat man durch das Zusammenwirken der verschiedenen Taxien der Euglenen zu erklären versucht. Ich glaube, daß in der Natur für das Emporsteigen der beweglichen Zellen weniger die negative Geotaxis als die positive Phototaxis verantwortlich zu machen ist. Sind die Euglenen an der Wasseroberfläche in guten Belichtungsverhältnissen in großer Menge angesammelt, so findet erhöhte Assimilation und damit auch starke Speicherung von Reservestoffen statt. Euglenen mit viel Reservestoffen neigen aber sehr zum Übergang in palmelloide Zustände. Dazu kommt noch, daß durch den intensiven Verbrauch der Kohlensäure der p_H-Wert der obersten Wasserschichten steigen wird

Darauf führt auch BUETSCHLI (l. c.) das Auftreten von Kalknieder schlägen in den Euglenenhäuten zurück. Das Zusammenwirken dieser Umstände dürfte die Euglenen zum Übergang in palmelloide Stadien veranlassen. In dem Stadium der metabolischen Beweglichkeit, das der Palmellenbildung vorausgeht, setzen sich nun die Euglenen, die knapp unter der Wasseroberfläche angesammelt sind, an das „Oberflächenhäutchen“ des Wassers fest und auf diese Weise kommt bei Ausscheidung der Membranen der aus palmelloiden Zellen bestehende hautartige Überzug zustande. Die Euglenen sind dann den besten Assimilationsbedingungen ausgesetzt und daher stets sehr paramylonreich. Bei der übermäßigen Ansammlung von Reservestoffen hören auch die Zellteilungen in der Wasserblüte bald auf und ältere Teile derselben enthalten viele tote Zellen, hier und da auch Dauercysten. Wird die Wasserblüte zerstört und unter Wasser gebracht, so schlüpfen die meisten Zellen, durch den plötzlichen Wechsel der Außenbedingungen dazu veranlaßt, aus den Häuten wieder aus und beginnen wieder zu schwärmen. Daß sie dabei zunächst in die tieferen Schichten des Wassers sinken, möchte ich nicht wie NAUMANN (1916 u. 1925) auf positive Geotaxis, sondern eher auf Chemotaxis gegen die aus dem Schlamm diffundierenden Stoffe oder einfach auf die Trägheit der Geißelbewegung der paramylonreichen Zellen zurückführen. Schwerer zu erklären ist die Plötzlichkeit, mit der oft Wasserblüten auftreten, und die auf eine besonders intensive Vermehrung der Euglenen knapp vor ihrem Erscheinen zurückgehen muß. Denn noch kurze Zeit vor der Wasserblüte ist die betreffende Art oft nur in wenigen Exemplaren im Plankton oder im Grundschlamm vorhanden. *Euglena sanguinea*, bei der die plötzliche Entstehung der Wasserblüten besonders auffallend ist, ist allerdings eine empfindliche, scheinbar an ganz bestimmte Außenbedingungen angepaßte Art, woraus ihr plötzliches Auftreten in Massen und ihr plötzliches Verschwinden bei ungünstigen Bedingungen verständlich wird.

Die Euglenenarten, die nicht imstande sind, palmelloide Stadien zu bilden, zeigen natürlich auch nicht die Erscheinung der Wasserblüte. Doch führen sie auf ihren natürlichen Standorten eigentümliche tagesperiodische Wanderungen durch, die der Wasserblütenbildung vergleichbar sind. *Euglena deses*, *E. Klebsii* und *E. intermedia* bewohnen mit Vorliebe ganz seichte Gewässer, besonders dichte Ansammlungen bilden sie jedoch auf der Oberfläche von feuchtem Schlamm oder nassem Sand. An solchen Standorten kann man die Beobachtung machen, daß die Euglenen über Nacht verschwunden

sind und sich einige Millimeter tief unter der Oberfläche des feuchten Substrates aufhalten, während sie bei Tagesanbruch phototaktisch angelockt alle an die Oberfläche kommen, die sie lebhaft grün färben. *Euglena Klebsii* und *E. intermedia* bleiben dabei stets in lebhafter metabolischer Bewegung, während *Euglena deses* nach ihrer Ansammlung an der Schlammoberfläche mehr oder weniger abgerundete Zellen bildet und die Bewegung vorübergehend einstellt. Da diese Arten jedoch keine festen palmelloiden Verbände bilden, behalten sie die Fähigkeit der Ortsveränderung bei und ziehen sich daher beim Aufhören des Lichtreizes am Abend, offenbar unter dem Einfluß chemotaktisch wirksamer Substanzen, wieder in das Substrat zurück. BRACHER (1919) hat in einer sehr sorgfältigen Untersuchung die Ursachen dieser Wanderungen durch die Wiederholung und Abänderung der natürlichen Bedingungen im Experiment aufgeklärt, die bei ihrem Material dadurch noch kompliziert waren, daß es von einem in der Gezeitenzone liegenden Flußufer stammte, wo es periodischen Überschwemmungen ausgesetzt war. Die Überspülung mit Wasser wirkt ebenso wie bei der Wasserblüte dahin, daß die Euglenen die oberflächliche Ansammlung aufgeben und in die Tiefe gehen.

IV. Zusammenfassung.

I. Teil.

1. Verschiedene morphologische Beobachtungen früherer Autoren werden teils bestätigt, teils ergänzt. Der von FISCHER beschriebene Cilienbesatz der Geißel von *Euglena viridis* ist tatsächlich vorhanden, ebenso bei *Phacus pleuronectes*, nicht dagegen bei mehreren anderen Eugleninen und einigen Volvocalen. Die Darstellung der Kern- und Zellteilungsvorgänge durch BAKER und TSCHENZOFF konnten als vollkommen zutreffend bestätigt werden. Unter ungünstigen Kulturbedingungen kann es bei Euglenen zur Bildung mehrkerniger Zellen kommen. Geschlechtliche Fortpflanzung läßt sich auch durch mannigfache Abänderung der Kulturbedingungen nicht erzielen, die Resultate HAASE'S scheinen auf Irrtum zu beruhen.

2. Zur Erzielung der Reinkultur hat sich bei den meisten Arten die Plattengußmethode mit Agar, bei anderen die Isolierung mit der Pipette bewährt. Erdabkochung ist als Universalnährlösung für Eugleninen und die meisten anderen Algen zu empfehlen.

3. Zwölf verschiedene Arten der Gattung *Euglena* wurden in absoluter Reinkultur gewonnen, fünf andere in Speziesreinkultur, außerdem *Colacium vesiculosum*, *Phacus pleuronectes* und *Astasia*

ocellata in absoluter Reinkultur und *Menoidium incurvum* in Speziesreinkultur. Bei einigen anderen Eugleninen, besonders den großen starren Formen, gelang die Kultur nicht.

4. Auf Grund der morphologischen und physiologischen Eigentümlichkeiten wird eine systematische Gruppierung der Eugleninen vorgeschlagen.

II. Teil.

1. Die kultivierten Eugleninen bevorzugen im allgemeinen eine neutrale Reaktion der Nährlösung, einige Arten jedoch eine schwach saure, einige andere eine schwach alkalische. Langsame Verschiebungen der Reaktion werden im allgemeinen leichter gegen die saure als gegen die alkalische Seite ertragen.

2. Alle grünen Eugleninen haben die Fähigkeit zu rein autotropher Ernährung. Sie bedürfen nicht des Ca und sind in ihren Ansprüchen auf das Fe sehr bescheiden. Als N-Quellen sind Nitrate und Ammonsalze gleich gut geeignet, nicht dagegen Nitrite. Da die Nährlösungen mit Ammonsalzen physiologisch sauer sind, liefern sie meist bessere Resultate als die physiologisch alkalischen Lösungen mit Nitraten. Werden Ammonium- und Nitrationen gleichzeitig geboten, wie z. B. im NH_4NO_3 , so werden nur die ersteren zur Ernährung verwendet.

3. Alle untersuchten Eugleninen können ihren N-Bedarf auch aus Aminosäuren decken, wobei natürliche Abbaugemische aus Eiweißkörpern besonders gute Resultate ergeben. Die Aminosäuremoleküle werden dabei ganz in den Stoffwechsel aufgenommen. Solange Ammonsalze oder Nitrate als N-Quellen vorhanden sind, werden die Aminosäuren nicht oder nur zum geringen Teil verbraucht.

4. *Euglena gracilis*, *Phacus pleuronectes* und *Colacium vesiculosum* vermögen auch ihren C-Bedarf aus Aminosäuren zu decken, nicht dagegen die anderen grünen Eugleninen, soweit sie untersucht wurden. Die Aminosäuren werden dabei zum größten Teil unter Ausscheidung von Ammoniak desaminiert. Diese heterotrophe Ernährung mit Aminosäuren setzt aber nur dann ein, wenn die CO_2 -Assimilation verhindert wird. Kohlehydrate, Fettsäuren, Oxysäuren und Alkohole sind als C-Quellen überhaupt nicht geeignet.

5. Von Paramylon befreite schwärmende Zellen von *Euglena gracilis* vermögen außer aus Aminosäuren auch aus Glukose und essigsäuren Salzen Paramylon zu bilden, die anderer Euglenen jedoch aus keiner organischen Substanz.

6. *Astasia ocellata* kann ihren C- und N-Bedarf nur aus Aminosäuren decken, nicht aber aus Kohlehydraten, Fettsäuren oder Alkoholen und anorganischen N-Verbindungen, auch nicht aus Peptiden.

7. Äußere Faktoren, wie Konzentration und Reaktion der Nährlösung, Licht und Dunkelheit, sowie das Vorhandensein bestimmter Ionen haben einen großen Einfluß auf die Bewegungsart und Körperform der Eugleninen, auf ihre Vermehrung, die Bildung und den Abbau von Reservestoffen. Der schwärmende und der palmelloide bzw. metabolische Zustand der Eugleninen stellen gleichwertige Wuchsformen dar und sind von verschiedenen Außenfaktoren abhängig.

8. *Euglena gracilis* und *Astasia ocellata* zeigen ausgeprägte Chemotaxis gegen H-Ionen und negative Osmotaxis, die letztere auch eine sehr deutliche Aerotaxis. *E. gracilis* reagiert außerdem positiv chemotaktisch gegen Aminosäuren und Essigsäure, *Astasia* gegen Aminosäuren, Fettsäuren und Butylalkohol.

Prag, Pflanzenphysiologisches Institut der deutschen Universität,
Juli 1927.

Literaturverzeichnis.

- ALEXEIEFF, A. (1911): Haplomitose chez les Eugléniens et dans d'autres groupes de Protozoaires. C. R. Soc. Biol. T. 71.
 — (1912): Le parasitisme des Eugléniens et la phylogénie des Sporozoaires sensu stricto. Arch. de Zool. expér. T. 5 sér. 10.
 — (1913): Systématisation de la mitose dite „primitive“. Arch. f. Protistenk. Bd. 29.
 ALVERDES, FR. (1923): Neue Bahnen in der Lehre vom Verhalten der niederen Organismen. Berlin.
 BAAS-BECKING, LOURENS u. ROSS (1925): Notes on microspectra. I. The absorption spectrum of *Euglena*. Gen. Physiol. Vol. 9.
 BAKER, W. B. (1926): Studies in the life-history of *Euglena*. I. *Euglena agilis* CARTER. Biol. Bull. Columbia Univ. Vol. 51.
 BANCROFFT, F. W. (1913): Heliotropism, differential sensibility and galvanotropism in *Euglena*. Journ. of exper. Zool. Vol. 15.
 BEAUCHAMP, P. DE (1911): *Astasia captiva* n. sp., Eugléniens parasite de *Catenulema* lemnae ANT. DUG. Arch. de Zool. expér. et gén. T. 6.
 BELAË, K. (1916): Protozoenstudien. I. Arch. f. Protistenk. Bd. 36.
 — (1926): Der Formwechsel der Protistenkerne. Jena.
 BERLINER, E. (1909): Flagellatenstudien. Arch. f. Protistenk. Bd. 15.
 BLOCHMANN, F. (1894): Über die Kernteilung bei *Euglena viridis*. Biol. Zentralbl. Bd. 14.

- BOKORNY, TH. (1888): Über Stärkebildung aus verschiedenen Stoffen. Ber. d. deutsch. bot. Ges. Bd. 6.
- BOLTE, E. (1920): Über die Wirkung von Licht und Kohlensäure auf die Beweglichkeit grüner und farbloser Schwärmzellen. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 59.
- BRACHER, R. (1919): Observations on *Euglena deses*. Annals of Bot. Vol. 33.
- BRESSLAU, E. (1924): Die Ausscheidung von Schutzstoffen bei einzelligen Lebewesen. Ber. Senckenberg. Naturf. Ges. Bd. 54.
- BRETSCHNEIDER, L. H. (1925): Über den feineren Bau von *Phacus costata* CONRAD. Arch. f. Protistenk. Bd. 53.
- BUDER, J. (1917): Zur Kenntnis der phototaktischen Richtungsbewegungen. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 58.
- BRUMPT, E. u. LAVIER, G. (1924): Un nouvel *Euglénien* polyflagellé parasite du têtard de *Leptodactylus ocellatus* au Brésil. Ann. Parasit. T. 2.
- BUETSCHLI, O. (1906): Beiträge zur Kenntnis des *Paramylons*. Arch. f. Protistenk. Bd. 7.
- CLARK, J. (1888): Über den Einfluß niederer Sauerstoffpressungen auf die Bewegung des Protoplasmas. Ber. d. deutsch. bot. Ges. Bd. 6.
- CUNNINGHAM B. u. HEARNE, C. (1924): Some observations upon the reproductive rate of *Euglena tripteris* and *Eudorina*. Journ. Elisha Mitchell Sc. Soc. Vol. 40.
- DAHM, P. (1926): Beziehungen der Sphagneen und einiger untergetauchter Wasserpflanzen zum Kalkkarbonat. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 65.
- DANGEARD, A. P. (1889): Les Chytridinées. Le Botaniste T. 1.
- (1900): Recherches sur la structure de *Polyphagus Euglenae* et sa production sexuelle. Le Botaniste T. 7.
- (1901): Recherches sur les *Eugléniens*. Le Botaniste T. 8.
- (1910): Phototactisme, assimilation, phénomènes de croissance. Bull. Soc. Bot. France 1910.
- (1910): Études sur le développement et la structure des organismes inférieures. Le Botaniste T. 11.
- (1924): Le vacuome chez les *Eugléniens*. Bull. Soc. Bot. France T. 71.
- DOBELL, C. C. (1908): The structure and life-history of *Copromonas n. g.*; a contribution to our knowledge of the flagellata. Quart. Journ. microsc. sc. Vol. 52.
- DREZEPOLSKI, R. (1925): Supplément à la connaissance des *Eugléniens* de la Pologne. (Polnisch mit franz. Res.) „Kosmos“, Journ. Soc. Polon. Nat. „Kopernik“ Vol. 50.
- ELENKIN, A. A. (1924/26): De *Euglenarum sine flagello sectione nova*. (Russisch mit deutschem Res.) Not. syst. Inst. Crypt. Hort. Bot. Reip. Rossic. Vol. 3—4.
- FISCHER, A. (1894): Über die Geißeln einiger Flagellaten. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 26.
- FRANCÉ, R. (1893): Zur Morphologie und Physiologie der Stigmata der Mastigophoren. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 56.
- (1908): Experimentelle Untersuchungen über Reizbewegungen und Lichtsinnesorgane der Algen. Zeitschr. f. d. Ausbau d. Entwicklungslehre Bd. 2.
- FRANK, TH. (1904): Kultur und chemische Reizerscheinungen der *Chlamydomonas* tingens. Bot. Ztg. Bd. 62.
- GARD, M. (1920): Division chez *Euglena limosa*. C. R. Acad. Sc. T. 170.
- (1922): Recherches sur une nouvelle espèce d'*Euglène* (*Euglena limosa* n. sp.). Bull. Soc. Bot. France T. 69.

- GASCHOTT, O. (1925): Beiträge zur Reizphysiologie des Forellenspermas. Arch. f. Hydrobiol. Suppl. 4.
- GICKLHORN, J. (1921): Notiz über *Stentor igneus* EHRBG. als Ursache auffallender Wasserverfärbung. Naturw. Wochenschr. Bd. 20.
- (1921): Eine einfache Methode zur Darstellung der Geißel mit Basalkorn bei Flagellaten. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 38.
- (1925): Notiz über *Euglena cyclopicola* n. sp. Arch. f. Protistenk. Bd. 51.
- GOOR, C. J. VAN (1925): Die Eugleninae des holländischen Brackwassers mit besonderer Berücksichtigung ihrer Chromatophoren. Rec. des travaux bot. néerl. Vol. 22.
- GRASSÉ, P. P. (1925): Vacuome et appareil de GOLGI des Euglènes. C. R. Acad. Sc. Paris T. 181.
- (1926): Sur le stigma ou appareil parabasal des Euglènes. C. R. Soc. Biol. T. 94.
- HAASE, G. (1910): Studien über *Euglena sanguinea*. Arch. f. Protistenk. Bd. 20.
- HALL, R. P. (1923): Morphology and binary fission of *Menoidium incurvum* (FRES.) KLEBS. Univ. California Publ. Zool. Vol. 20.
- HAMBURGER, C. (1911): Studien über *Euglena Ehrenbergii*, insbesondere über die Körperhülle. Sitz.-Ber. d. Heidelb. Akad. 1911.
- HAMMARSTEN, O. (1922): Lehrbuch der physiologischen Chemie. München und Wiesbaden 1922.
- HASWELL, W. A. (1892): Note on the occurrence of a flagellate Infusorian as an intracellular parasite. Proc. Linn. Soc. Vol. 7.
- (1907): Parasitic Euglenae. Zool. Anz. Bd. 31.
- HEGNER, R. W. (1923): Observations and experiments on Euglenoidina in the digestive tract of frog and toad tadpoles. Biol. Bull. Vol. 45.
- HORNE, A. DE (1920): Contribution à l'étude comparée de l'appareil nucléaire des Infusoires ciliés, des Euglènes et des Cyanophycées. Arch. zool. expér. T. 60.
- HÜBNER, K. (1886): Euglenaceenflora von Stralsund. Progr. d. Realgymn. von Stralsund 1886.
- JENNINGS, J. (1910): Das Verhalten der niederen Organismen. Jena 1910.
- JÍROVEC, O. (1926): Protozoenstudien. I. Arch. f. Protistenk. Bd. 56.
- KARL, J. (1915): Über die Kernteilung der Euglenen vom Typus *viridis*. Botanikai Közlemények, Budapest 1915.
- KENT, W. (1882): Manual of Infusoria. London 1880—1882.
- KRUTEN, J. (1895): Die Kernteilung von *Euglena viridis* EHRENB. Zeitschr. f. wiss. Zool. 1895.
- KHAWKINE, W. (1885/86): Recherches biologiques sur l'*Astasia ocellata* n. sp. et l'*Euglena viridis* EHRBG. Ann. d. sc. natur. 6. sér. T. 19 1885 et 7. sér. T. 1 1886.
- KLAUSENER, C. (1908): Die Blutseen der Hochalpen. Intern. Revue d. ges. Hydrobiol. u. Hydrogr. Bd. 1.
- KLEBS, G. (1883): Über die Organisation einiger Flagellatengruppen und ihre Beziehungen zu anderen Infusorien. Unters. Bot. Inst. Tübingen Bd. 1.
- (1888): Über die Organisation der Gallerte bei einigen Algen und Flagellaten. Unters. Bot. Inst. Tübingen Bd. 2.
- (1893): Flagellatenstudien. I., II. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 55.
- KLEIN, G. u. KISSER, J. (1925): Die Nitrataassimilation der höheren Pflanze. Sitz.-Ber. d. Akad. Wien, Abt. I, Bd. 134.

- KNOOP, F. u. OESTERLEIN, H. (1925): Über die natürliche Synthese der Aminosäuren und ihre experimentelle Reproduktion. *HOPPE-SEYLER'S Zeitschr. f. phys. Chem.* Bd. 148.
- KOLKWITZ, R. (1924): Planktonmembranfilter. *Ber. d. deutsch. bot. Ges.* Bd. 42.
- KOSTER, W. J. (1921): The comparative resistance of different species of Euglenidae to citric acid. *Ohio Journ. Sc.* Vol. 21.
- KOSTYTSCHEW, S. (1926): *Lehrbuch der Pflanzenphysiologie.* Berlin 1926. (S. 447.)
- KÜNSTLER, J. (1890): Les „yeux“ des Infusoires flagellifères. *Journ. de Micrographie* Vol. 10.
- KUTSCHEE, F. (1898): Beitrag zur Kenntnis der *Euglena sanguinea*. *Zeitschr. f. phys. Chem.* Bd. 24.
- LEMMERMANN, C. (1910): Algen. Kryptogamenflora der Mark Brandenburg Bd. 3.
— (1913): Eugleninae. in: PASCHER'S Süßwasserflora.
- LINSBAUER, K. (1915): Notiz über die Säureempfindlichkeit der Euglenen. *Österr. bot. Zeitschr.* Bd. 65.
- LOEHNER, L. u. MARKOVITS, B. (1922): Zur Kenntnis der oligodynamischen Metallgiftwirkungen auf die lebende Substanz. *PFLÜGER'S Arch.* Bd. 195.
- MAINX, F. (1924): Kultur und Physiologie einiger *Euglena*-Arten. (Vorl. Mitt.) *Lotos (Prag)* Bd. 72.
— (1926): Einige neue Vertreter der Gattung *Euglena* EHRBG. *Arch. f. Protistenkunde* Bd. 54.
— (1927): Untersuchungen über Ernährung und Zellteilung bei *Eremosphaera viridis* DE BARY. *Ibid.* Bd. 57.
- MANGENOT, G. (1926): A propos de la signification du stigma des Euglènes. *C. R. Soc. Biol. T.* 94.
- MOLISCH, H. (1926): Über ein sehr empfindliches biologisches Reagens für Sauerstoff. *Pflanzenbiologie in Japan.* Jena 1926.
- MOROFF (1904): Beiträge zur Kenntnis einiger Flagellaten. *Arch. f. Protistenk.* Bd. 3.
- NÄGLER, K. (1911): Parasitische Chytridiaceen in *Euglena sanguinea*. *Ibid.* Bd. 23.
- NAUMANN, E. (1915/16): Quantitative Untersuchungen über die Organismenformationen der Wasseroberfläche. I. *Intern. Revue d. ges. Hydrobiol. u. Hydrogr.* Bd. 7.
— (1918): Nagra iakttagelser angående *Euglena sanguinea* hos CARL VON LINNÉ. *Bot. Notiser* 1918.
— (1925): Notizen zur Biologie der Süßwasseralgen. III. *Arkiv för Bot.* Bd. 19.
- OLTMANN, FR. (1917): Über Phototaxis. *Zeitschr. f. Bot.* Bd. 9.
- PASPALLEFF u. POPOFF (1924/25): Encystierung und Stimulation. *Zellstimulationsforschungen* Heft 1 ff.
- PETERSEN, J. B. (1918): Om *Synura uvella* STEIN og nogle andre Chrysomonadiner. *Vidensk. Medd. fra Dansk nat. Foren.* Bd. 69.
- PFEFFER, W. (1888): Über chemotaktische Bewegungen von Bakterien, Flagellaten und Volvocineen. *Unters. Bot. Inst. Tübingen* Bd. 2.
- PLENGE, H. (1898): Über die Verbindung zwischen Geißel und Kern bei den Schwärnzellen der Mycetozoen und bei Flagellaten. *Verh. nat. Ver. Heidelberg N. F.* Bd. 6.
- PRINGSHEIM, E. G. (1908): Über die Herstellung von Gelbfiltern und ihre Verwendung zu Versuchen mit lichtreizbaren Organismen. *Ber. d. deutsch. bot. Ges.* Bd. 26.
— (1912): Die Kultur von Algen im Agar. *Beitr. z. Biol. d. Pflanzen* Bd. 11.
— (1912): Zur Physiologie der *Euglena gracilis*. *Ibid.* Bd. 12.

- PRINGSHEIM, E. G. (1921): Zur Physiologie saprophytischer Flagellaten. Beitr. z. allg. Bot. Bd. 2.
- (1926): Kulturversuche mit chlorophyllführenden Mikroorganismen. V. Methoden und Erfahrungen. Beitr. z. Biol. d. Pflanzen Bd. 14.
- (1926): Über das Ca-Bedürfnis einiger Algen. Planta Bd. 2.
- PRINGSHEIM, E. G. u. MAINX, F. (1926): Untersuchungen über *Polytoma uvella*, insbesondere über die Beziehungen zwischen chemischer Konstitution und chemotaktischer Reizwirkung. Planta Bd. 1.
- PRINGSHEIM, H. (1910): Die Variabilität niederer Organismen. Berlin 1910.
- PROWAZEK, S. v. (1903): Die Kernteilung von Entosiphon. Arch. f. Protistenk. Bd. 2.
- REICHENOW, E. (1909): Untersuchungen an *Haematococcus pluvialis* nebst Bemerkungen über andere Flagellaten. Arb. a. d. kais. Gesundheitsamt Bd. 33.
- RHODES, R. C. u. KIRBY, H. (1923): Mitosis im *Heteronema acus*. Manuskript, zitiert bei HALL (1923).
- RICHTER, O. (1911): Die Ernährung der Algen. Leipzig 1911.
- ROSKIN, G. u. LEVINSOHN, L. (1926): Die Oxydasen und Peroxydasen bei Protozoen. Arch. f. Protistenkunde Bd. 56.
- ROTHERT, W. (1914): Der Augenfleck der Algen und Flagellaten — ein Chromoplast. Ber. d. deutsch. bot. Ges. Bd. 32.
- RYDER, A. (1893): The growth of *Euglena viridis* when constrained principally to two dimensions of space. Contr. zool. Lab. Pennsylv. Vol. 1.
- SAEGER, A. (1925): The growth of duckweeds in mineral solutions. Journ. Gen. Phys. Vol. 7.
- SASSI, M. (1907): Einiges über Flagellaten. Mitt. Naturw. Ver. Univ. Wien Bd. 5.
- SCHILLER, J. (1924): Beiträge zur Kenntnis des Pflanzenlebens mitteleuropäischer Gewässer. II. Über *Colacium vesiculosum* EHRBG. Österr. bot. Zeitschr. Bd. 73.
- SCHÜSSLER, H. (1917): Cytologische und entwicklungsgeschichtliche Protozoenstudien. I. Teilung von *Scytomonas pusilla* STEIN. Arch. f. Protistenk. Bd. 38.
- SCHMITZ, FR. (1884): Beiträge zur Kenntnis der Chromatophoren. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 15.
- SCHWARZ, F. (1884): Der Einfluß der Schwerkraft auf die Richtungsbewegungen der Chlamydomonaden und Euglenen. Ber. d. deutsch. bot. Ges. Bd. 2.
- STEIN, F. (1878): Der Organismus der Flagellaten. Leipzig 1878.
- TANNREUTHER, G. W. (1923): Nutrition and reproduction of *Euglena*. Arch. f. Entwicklungsmech. d. Organ. Bd. 52.
- TERNETZ, CH. (1912): Beiträge zur Morphologie und Physiologie der *Euglena gracilis*. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 51.
- TSCHENZOFF, B. (1916): Die Kernteilung bei *Euglena viridis* EHRBG. Arch. f. Protistenk. Bd. 36.
- TREBOUX, O. (1905): Organische Säuren als Kohlenstoffquellen bei Algen. Ber. d. deutsch. bot. Ges. Bd. 23.
- TURNER, C. L. (1917): A culture medium for *Euglena* with notes on the behavior of *Euglena*. Anat. Rec. Vol. 12.
- USPENSKI, E. E. (1924): Contributions to the study of the action of different quantities of iron. (Russisch mit englischem Resumé.) Moskau 1924.
- USPENSKI, E. E. u. USPENSKAJA, W. J. (1925): Reinkultur und ungeschlechtliche Fortpflanzung des *Volvox minor* und *Volvox globator* in einer synthetischen Nährlösung. Zeitschr. f. Bot. Bd. 17.

- WAGER, H. (1900): On the eye-spot and flagellum in *Euglena viridis*. Linn. Soc. Journ. Zool. Vol. 27.
- (1913): The life-history and cytology of *Polyphagus Euglenae*. Ann. of Bot. Vol. 27.
- WARBURG, O. u. NEGELEIN, E. (1920): Über den Energieumsatz bei der Kohlensäure-assimilation. Biochem. Zeitschr. Bd. 110.
- WEHRLE, E. (1927): Studien über Wasserstoffionenkonzentrationsverhältnisse und Besiedelung an Algenstandorten in der Umgebung von Freiburg i. Br. Zeitschr. f. Bot. Bd. 19.
- WEISSE (1856): Über den Lebenslauf der Euglenen. Bull. de l'Acad. Imp. St. Pétersbourg Vol. 12.
- WENRICH, D. H. (1923): Variations in *Euglenamorpha hegneri* n. g. n. sp. from the intestine of tadpoles. Anat. Rec. Vol. 24.
- (1924): Studies on *Euglenamorpha hegneri* n. g. n. sp., an euglenoid flagellate found in tadpoles. Biol. Bull. Marine Biol. Lab. Vol. 47.
- WERMEL, E. (1924): Zur Biologie der Flagellaten eines Moortümpels. Arch. f. Protistenk. Bd. 48.
- WETTSTEIN, F. v. (1921): Zur Bedeutung und Technik der Reinkultur für Systematik und Floristik der Algen. Österr. bot. Zeitschr. Bd. 70.
- WILDEMANN, E. DE (1894): Thermotaxis bei Euglenen. Bull. de la Soc. belge de Microscopie Vol. 20.
- YASUDA, A. (1899): Über die Anpassungsfähigkeit einiger Infusorien in konzentrierten Lösungen. Arb. Bot. Inst. Univ. Tokyo 1899.
- ZOPF, W. (1895): COHN's Hämatochrom, ein Sammelbegriff. Biol. Zentralbl. Bd. 15.
- ZUMSTEIN, H. (1900): Zur Morphologie und Physiologie der *Euglena gracilis*. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 34.



1



2



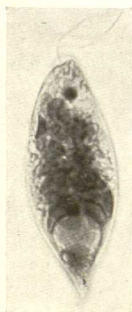
3



4



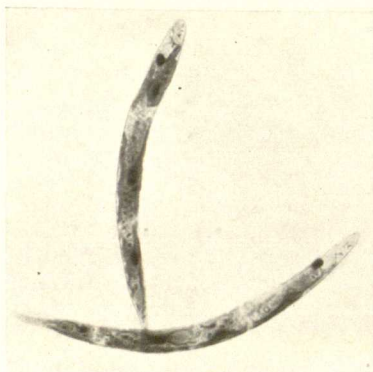
5



6



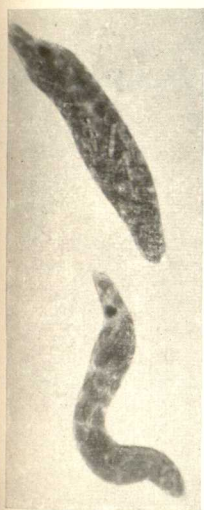
7



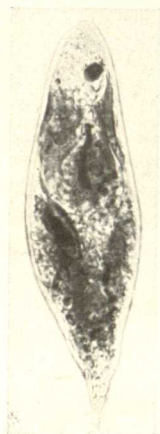
8



9



10



11



12



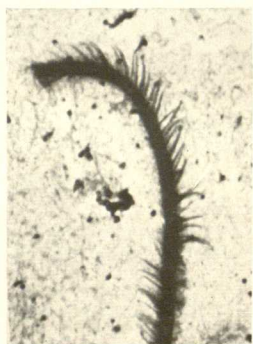
13



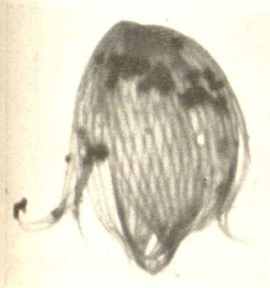
14



16



17



15



18