

der Flechten zusammen.

Die Algengattung *Cladophora* bietet reich verzweigte, grüne Zellfäden dar, deren Zellen mit fortschreitendem Grad der Verzweigung an Dicke abnehmen. Es ist das eine sehr verbreitete Gattung der Süßwasseralgen, und jede ihrer Arten ist für die Untersuchung geeignet. Die Artbestimmung ist in dieser Gattung aber sehr unsicher. Wir wählen eine dunkelgrüne, flutende, rasenbildende Art, die *Cladophora glomerata* (Fig. 79 A) zur näheren Betrachtung aus. Sie ist büschelig verzweigt; die Seitenzweige entspringen, wie bei allen anderen Cladophoren, aus den oberen Seitenrändern der Zellen. Die Verzweigung schreitet akropetal fort, so daß die Endglieder der Zweige als Scheitelzellen anzusehen sind. Es gehen aber auch aus älteren Zellen nachträglich Seitenzweige, gewissermaßen Adventivzweige, hervor. Bei hinreichend starker Vergrößerung betrachtet, zeigt sich der grüne Wandbeleg der Zellen aus kleinen, polygonalen, aneinanderstoßenden Plättchen (Fig. 79 B, *ch*) gebildet, die durch zarte, farblose Linien seitlich getrennt sind. In jedem Plättchen sind mehr oder weniger zahlreiche, blasse Körner (*a*) zu sehen; außerdem liegen in einzelnen Platten relativ große, mehr oder weniger regelmäßige, rundliche, stärker das Licht brechende Gebilde (*p*), die als Pyrenoide bezeichnet werden und auf Eiweiß reagieren; jedes Pyrenoid ist von einer Stärkehülle umgeben. Die Zellen sind im Innern von Zellsaft erfüllt, der von farblosen, äußerst dünnen Plasmaplatten durchsetzt wird, die, von dem Wandbeleg ausgehend, den Saft Raum in unregelmäßige, verschieden große, polygonale Kammern zerlegen. Stellenweise erblickt man in den inneren Plasmaplatten Chromatophoren. Bei Einstellung auf den optischen Durchschnitt fällt es uns

auf, daß der farblose Wandbeleg hier und da in den Saft Raum vorspringt. Er schließt die Kerne ein, in denen bei besonders günstiger Lage sogar ein Kernkörperchen zu unterscheiden ist. Wir haben es bei *Cladophora*, wie aus dieser Beobachtung schon folgt, mit einer Alge zu tun, die viele Kerne in ihren Zellen führt. Wird das Präparat ziemlich stark gequetscht, so sieht man in den gedrückten Zellen den Inhalt von der Wand etwas zurücktreten, die einzelnen Chlorophyllplättchen sich voneinander trennen

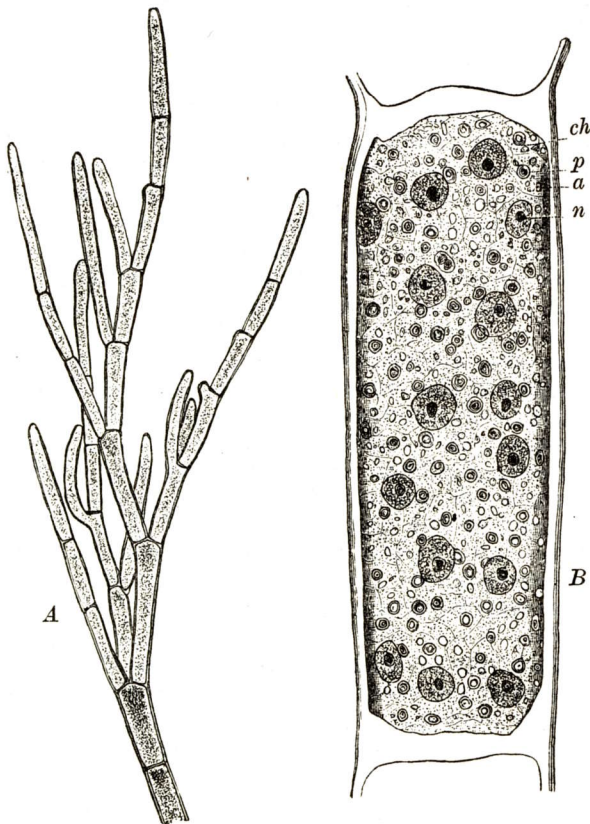


Fig. 79. *A* Stück einer *Cladophora glomerata*. Vergr. 48. *B* eine Zelle derselben *Cladophora*, nach einem Chromsäure-Karmin-Präparat. Vergr. 540. *n* Zellkerne, *ch* Chromatophoren mit Pyrenoiden *p* und Stärkekörnchen *a*.

und abrunden. Gleichzeitig treten die kleinen Körner (*a*) und Pyrenoide (*p*) deutlich in den Chromatophoren hervor, welche dann ebenso aussehen, wie die Chlorophyllkörner höherer Pflanzen, auf die Wasser einwirkt. Setzen wir nun ein wenig Jodjodkaliumlösung dem Präparat zu, so erscheinen die kleinen Körner und auch die Hüllen der Pyrenoide braun, indem die erfolgende Violettfärbung durch das Grün der Chromatophoren verdeckt ist; die stellenweise sichtbaren Kerne nehmen eine braune Färbung an. Wir suchen in diesem Präparat unversehrte Stellen auf, welche Stärkekörner und Pyrenoide gut gefärbt zeigen, und in denen wir auch bei tieferer Einstellung die Kerne erkennen. — Wir untersuchen hierauf noch einen Faden, den wir direkt in einen Tropfen Pikrinsäure-Alkohol einlegten. In dem sich gelbbraun färbenden Inhalt der Zellen treten die Pyrenoide deutlich hervor. Auch stellen sich nach kurzer Zeit in den Chlorophyllplatten unregelmäßig begrenzte, braune Körner aus Chlorophyllan ein, die von zersetztem Chlorophyllfarbstoff herrühren und auch nach Einwirkung anderer Säuren auftreten (Chlorophyllanreaktion).

Um die Kerne genauer studieren zu können und vollen Einblick in deren Verteilung zu gewinnen, wollen wir noch andere Mittel anwenden. Diese Mittel sollen uns zugleich Gelegenheit bieten, einige bewährte Fixierungs- und Färbungsmethoden kennenzulernen, denen die histologischen Studien in den letzten Dezennien wesentliche Förderung verdanken. — In Alk. abs. kollabieren die *Cladophoren* bandartig; sie lassen sich hingegen gut mit bestimmten Säuren und Säuregemischen

fixieren, die auch für das Gewebe höher organisierter Pflanzen, wenn dieses entsprechend zerkleinert in die Lösung eingetragen wird, sich besonders gut bewährt haben. Wir legen von unserer *Cladophora* eine kleine Partie in 1-proz. Chromsäure, eine andere kleine Partie in konz. Pikrinsäure, eine weitere in Chrom-Essigsäure (Chromsäure 0,7 %, Essigsäure 0,5 %), eine weitere in Chrom-Osmium-Essigsäure (Chromsäure 0,5 %, Osmiumsäure 0,2 %, Eisessig 0,2 %). Hierbei haben wir darauf zu achten, daß die Menge der benutzten Flüssigkeit mindestens das Hundertfache des Volumens des zu fixierenden Objekts betrage. Die Chromsäure und Chrom-Essigsäure lassen wir einige Stunden, doch ohne Nachteil selbst 24 Std., die Chrom-Osmium-Essigsäure $\frac{1}{2}$ Std., die Pikrinsäure etwa 24 Std. einwirken. In allen Fällen müssen die Objekte hierauf auf das sorgfältigste in fließendem Wasser ausgewaschen werden (vgl. Abschn. XXXII). Ganz besonders hat man darauf zu achten, daß alle Pikrinsäure aus den Objekten entfernt werde, falls man diese mit Hämatein-Ammoniak (s. unten) färben will. — Die verschiedenartig fixierten und gut ausgewaschenen Objekte legen wir nunmehr in ein Uhrglas mit P. MAYERSchem Karmalaun oder MAYERSchem Parakarmin. In den Karminen haben die Schnitte mehrere Stunden zu verweilen. Eine andere Partie der Fäden färben wir mit P. MAYERSchem Hämalaun. Am besten ist es, von Zeit zu Zeit den Tinktionsgrad der Objekte an kleinen Proben unter dem Mikroskop zu kontrollieren und sie herauszunehmen, wenn sie hinreichende Mengen Farbstoff aufgespeichert haben. Sollte trotz dieser Vorsichtsmaßregel eine Überfärbung der Objekte stattgefunden, d. h. diese sich zu dunkel gefärbt haben, so legt man sie in reines Wasser oder in etwa 1-proz. wässr. Alaunlösung und läßt sie in den betreffenden Flüssigkeiten so lange, bis die Intensität der Färbung in erwünschtem Maße abgenommen hat. Um die Pikrinpräparate nach der Hämatein-Ammoniak-Methode zu färben, müssen wir aus ihnen, wie erwähnt, jede Spur von Pikrinsäure entfernt haben. Wir übertragen sie in relativ große Mengen ausgekochten Wassers, das wir noch wiederholt wechseln. In diesem zuvor durch Kochen von Kohlensäure befreiten Wasser verweilen die Objekte an 24 Std., worauf sie erst gut gefärbt werden können. Zu dem Zweck werfen wir einige Hämatoxylinkristalle in ein wenig Aq. dest. und blasen dieses mit Ammoniakgas an. Wir bewerkstelligen das mit Hilfe eines etwas Ammoniaklösung enthaltenden Spritzfläschchens, in dem die beiden Glasröhren die Flüssigkeit nicht erreichen. Die Hämatoxylinkristalle lösen sich hierauf mit schön violetter Farbe. Man verdünnt die Lösung stark mit Aq. dest. und läßt die Objekte einige Stunden in ihr liegen. Der richtige Augenblick der Färbung läßt sich auch hier direkt kontrollieren. Man pflegt die Objekte mit Vorteil etwas zu überfärben und wässert sie hierauf mehrere Stundenlang mit Aq. dest. Anders als mit Pikrinsäure fixierte Präparate sind für die Hämatein-Ammoniak-Tinktion wenig geeignet. Die mit Karmalaun gefärbten Objekte spült man mit Aq. dest. aus. Bleibt das Zytoplasma etwas gefärbt, so kann diese Färbung durch 1-proz. Alaunlösung oder eine $\frac{1}{2}$ -—1-proz. Salzsäurelösung beseitigt werden. Hat man die Färbung mit Parakarmin vorgenommen, so wäscht man mit einer entsprechend schwachen Lösung von Aluminiumchlorid in Alkohol, und wenn dies nicht genügt, mit Alkohol, der 5 % Essigsäure enthält, aus.

Wollen wir nach vollendeter Untersuchung dieser gefärbten Objekte uns Dauerpräparate aus ihnen herstellen, so wählen wir als Aufbewahrungsmittel Glyzerin oder Glyzerin-Gelatine. Die hier in Betracht kommenden Objekte dürfen nicht unmittelbar in die genannten Einschlußmittel übertragen werden, da die Zellen sonst infolge plötzlicher Wasserentziehung zusammensinken. Man legt die Objekte daher zunächst

in sehr verd. Glyzerin, das durch Stehen an der Luft sich langsam konzentriert. Dann können die Fäden ohne nachteilige Folgen in konz. Glyzerin oder in Glyzerin-Gelatine übertragen werden. Die Glyzerinpräparate verschließen wir mit Caedax. Die Glyzerin-Gelatinepräparate verlangen zunächst keinen weiteren Verschuß.

Die verschiedenen fixierten und gefärbten Präparate unterwerfen wir einem eingehenden Studium und finden, daß die Chromsäure- bzw. Chromsäuregemisch-Karmin-Präparate einerseits, die entsprechend fixierten, mit Hämalan und Hämatein-Ammoniak gefärbten Objekte andererseits, in dem vorliegenden Fall die besten sind. Doch muß gleich ausdrücklich betont werden, daß dieses Ergebnis nur eben für das vorliegende Objekt maßgebend ist, und sehr wohl bei anderen eine Methode, die hier weniger anschlug, den Vorzug verdienen könnte. Auch kommt es nur zu häufig vor, daß eine sonst bewährte Tinktion aus unbekannten Ursachen versagt; daher ist niemals auf einen vereinzelter Fall hin ein Schluß zu ziehen. Überhaupt hat sich das Fixieren und Färben des Zellinhalts zu einer besonderen Kunst entwickelt, die erlernt werden will und Übung verlangt, so daß man bei den ersten Versuchen auf Mißerfolge gefaßt sein muß. — Wir haben die Cladophoren als geeignetes Objekt für die Einführung in verschiedene Fixierungs- und Färbungsmethoden gewählt; wer sich auf die sicherste, fast nie versagende Methode bei ihnen beschränken will, der fixiere sie in der zuvor angegebenen Weise mit 1-proz. Chromsäure und färbe hierauf mit einem der empfohlenen Karmine oder mit Hämalan. Die Karmintinktionen gelingen so gut wie immer.

In den Karminpräparaten (Fig. 79 B) treten die Kerne ganz scharf hervor. Die Pyrenoide, sowie das übrige Zellplasma bleiben so gut wie ungefärbt; auch die Stärkekörner nehmen diesen Farbstoff nicht auf. Die Kerne, denen wir besonders unsere Aufmerksamkeit zuwenden, sind annähernd gleichmäßig in der Zelle verteilt; sie liegen der Chlorophyllschicht von innen an und ragen in das Zellinnere hinein. Jeder Kern weist ein dunkel gefärbtes Kernkörperchen auf und erscheint im übrigen wie feinkörnig oder feinporös. — Die Hämalan- bzw. Hämateinpräparate zeigen die Kerne dunkel gefärbt, außerdem, wenn auch schwach, die Pyrenoide. Die Stärkekörner sind nicht gefärbt, wohl aber die Mikrosomen im Zytoplasma, und zwar fast ebenso dunkel wie die Pyrenoide.

Einen einfachen Zellfaden bietet uns die Gattung *Spirogyra*. Wir wählen zur Untersuchung eine Art, die einen zentralen, leicht sichtbaren Kern aufweist. So gebaut ist beispielsweise *Spirogyra majuscula*, die man nicht eben selten in Wasserlachen findet. Indessen können ebensogut auch andere Arten mit zentralem Kern zur Beobachtung dienen und werden in den wesentlichen Verhältnissen ihres Baues nur wenig Abweichung bieten. Ist man einmal im Besitz von gutem *Spirogyren*-material, so suche man es weiter zu kultivieren. In Zimmerkulturen gehen die *Spirogyren* leicht zugrunde. Am besten gelingt es, sie in mit Regen- oder Leitungswasser gefüllten Glasschalen von 20 cm Durchmesser, deren Boden mit einer dünnen Schicht gesunden Schlammes bedeckt ist und die einige Sprosse von *Elodea* schwimmend enthalten, am Fenster eines kühlen Nordzimmers oder im Kalthaus bei Oberlicht zu ziehen. Sie müssen dort ruhig, sich selbst überlassen, stehenbleiben und können so auch überwintern.

Für anhaltende Kultur der meisten Süßwasseralgen empfiehlt es sich, größere Aquarien zu verwenden, etwa solche, die 30–40 l Wasser aufnehmen können. Ein solches Aquarium wird von Glaswänden gebildet, die in einem Metallrahmen stecken. In der Mitte des Bodens befestigt man zwei aufrechte Röhren, von denen die eine an die Wasserleitung angeschlossen ist, die andere für den Ablauf sorgt. Mit der Zu-

leitungsröhre wird ein gebogenes Rohr beweglich verbunden, damit der eintretende Wasserstrahl nach verschiedenen Stellen des Aquariums geführt werden kann. Die Mündung dieses Rohrs muß sich stets etwa 10 cm unter der Wasseroberfläche befinden. Ein Abflußrohr bestimmt die Höhe der letzteren. Es ist mit passendem Deckel versehen, damit schwimmende Algen nicht in seine Mündung mit hineingerissen werden. Es ist überhaupt gut, wenn die Algen im Aquarium befestigt sind, sei es durch Steine, sei es durch einzelne an der Glaswand emporgezogene und dort angetrocknete Fäden. In Aquarien, wie das geschilderte, sind die Algen nicht nur dauernd mit frischem Wasser versorgt, sondern auch einer erwünschten, kühlen Temperatur ausgesetzt. Direkte Sonnenbeleuchtung muß stets ausgeschlossen bleiben. — Für bestimmte Zwecke gilt es, die Algen in Nährstofflösungen zu kultivieren. Besonders empfiehlt sich hierzu die sog. Knopsche Nährlösung, die auf 4 T. Kalziumnitrat, 1 T. Magnesiumsulfat, 1 T. Kaliumnitrat, 1 T. Kaliumphosphat enthält. Für die Bereitung muß man zunächst die beiden Kalisalze und Magnesia auflösen und nach der geeigneten Verdünnung das für sich aufgelöste Kalziumnitrat hinzufügen. Unter solchen Umständen scheidet sich nur ein geringer Teil der unlöslichen Kalziumphosphate ab. Eisen hinzuzufügen ist im allgemeinen nicht nötig, da die Spuren, die mit dem Ausgangsmaterial und mit dem Wasser in die Kultur kommen, vollständig ausreichen. Man wendet diese Nährstofflösung in Konzentrationen von 0,2—0,5 % Salzgehalt an.

Die Zellen der *Spirogyra majuscula* sind in ausgewachsenem Zustand etwa $1\frac{1}{2}$ —2 mal so lang als dick (Fig. 80). Ihre glatten, porenlosen Wände bestehen aus Zellulose. Ihre Oberfläche besitzt einen zarten, pektinhaltigen, meist schwach schleimigen Überzug. Die Zellhaut ist im Innern von einem zarten, farblosen, zytoplasmatischen Wandbeleg bekleidet, der deutlich sichtbar wird, wenn man die Zelle plasmolysiert, d. h. ihren protoplasmatischen Zelleib durch wasserentziehende Mittel, etwa Zuckerlösung, Glyzerin, Kochsalz- oder Salpeterlösungen zur Kontraktion bringt (vgl. S. 29). Im farblosen Wandbeleg verlaufen 8—10 Chlorophyllbänder, die meist ziemlich steil und eng gewunden erscheinen und der Wand rinnenförmig anliegen, wobei die Vertiefung der Rinne der Wand zugekehrt ist. Die Bänder haben einen zierlich gebuchteten Umriß und sind durchsichtig genug, um den Einblick in das Innere der Zelle zu gestatten. In unregelmäßigen Abständen sind den Bändern dichtere, kugelige, farblose Körper eingebettet, die uns bereits bekannten Pyrenoide. Diese Pyrenoide sind von einer hohlkugeligen Schicht kleiner Stärkekörner umhüllt. Der zentrale Kern ist bei dieser Spezies spindelförmig; wird er jedoch durch Druck auf die Zelle aus seiner Lage gebracht und nun von der Seite sichtbar, so präsentiert er sich als Scheibe. Er hat somit in Wirklichkeit die Gestalt einer bikonvexen Linse. In seiner Mitte liegt ein großes, deutliches Kernkörperchen; seltener sind zwei bis drei solche Kernkörperchen gleichmäßig im Innern des Kerns verteilt. — Bei anderen nahe verwandten Arten ist der Kern dicker und erscheint bei natürlicher Lage der Zelle als Rechteck mit abgerundeten Ecken. — Der Kern ist von einer sehr dünnen Zytoplasmaschicht umgeben, von der aus zarte Zytoplasmafäden nach der Peripherie der Zelle verlaufen. An diesen Fäden ist der Kern in dem

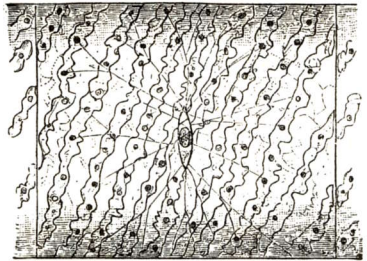


Fig. 80. *Spirogyra majuscula*. Zelle eines Fadens bei veränderten optischen Einstellungen entworfen, auch der zentrale Zellkern und die ihn tragenden Fäden dargestellt. Vergr. 240.

mit Zellsaft erfüllten Saft Raum der Zelle suspendiert. Die Fäden entspringen alle der schmalen Kante des Kerns, gabeln sich meist wiederholt in ihrem Verlauf und setzen an die Innenseite der Chlorophyllbänder, und zwar an die vorspringenden Stellen, welche Pyrenoide bergen, an. Man kann sich hiervon in den meisten Fällen leicht bei langsamer Veränderung der optischen Einstellung überzeugen.
