

## BLAUALGEN UND LEBENSRAUM, II.

### Morphologische Reaktionen von *Anabaena azollae imbricatae*.

G. H. Schwabe, Botanisches Institut, Chines. Nationaluniversität  
Taipeh/Formosa.

Aus ökologischen Untersuchungen an Thermal- und Mineralquellen wurde gefolgt, daß zwischen den Gehalten an Spurenelementen in Quellwässern und dem Vorkommen und der örtlichen Entfaltung von Cyanophyceen, insbesondere *Oscillatoriaceen*, enge Zusammenhänge bestehen könnten. Zur Prüfung dieser Fragen 1943 bis 1945 durchgeführte Kulturversuche einfacherster Art erbrachten das unerwartete Ergebnis, daß einige *Oscillatoriens* überdies äußerst empfindlich, rasch und vielseitig auf manche Schwermetallionen in oligodynamischen Verdünnungen (besonders Cu, Ag, Zn, Cr, Mn, dagegen nicht auf Pb), aber auch auf verschiedene organische Wirkstoffe reagieren, indem dieselben in noch ungeklärter Weise die recht verwickelten Bewegungsvorgänge der Trichome, damit die Lagerbildung und zugleich die Assimilationstätigkeit beeinflussen, (Vgl. hierzu 3, 4; eingehende Berichte über diese Erscheinungen sollen baldmöglichst folgen). Im Rahmen dieser seit Ende 1946 wieder aufgenommenen Arbeiten erschien es wünschenswert, andere Gruppen von Hormogonalen in Vergleichsversuchen im gleichen Sinne zu prüfen. Da größere *Oscillatoriens* (*O. princeps*, *O. proboscidea* u. a.), trotzdem sie verhältnismäßig arm an gut faßbaren mikromorphologischen Merkmalen sind, bei derartigen Versuchen mancherlei Veränderungen, insbesondere in den Trichom- und Zellmaßen und in der Färbung zeigten, kam es darauf an, morphologisch reichere Arten heranzuziehen.

Bei der Suche nach geeigneten Objekten wurde auch *Anabaena azollae* geprüft. Obwohl mit einer derartigen Symbiose scheinbar ein sehr unübersichtliches System in Arbeit genommen wurde, zeigte sich dennoch, daß für vergleichende Untersuchungen über morphologisch faßbare Wirkungen (oligodynamische Faktoren wurden allerdings bisher noch nicht näher geprüft) ökologischer Faktoren kaum eine andere *Nostocacee*- und vielleicht überhaupt keine Blaualge—besser geeignet sein dürfte als der Azolla-Symbiont. Dafür sprechen u. a. folgende Gründe:

- a) verhältnismäßig klar gegliederter Formenreichtum;
- b) gut faßbare und durch Kulturbedingungen abwandelbare Maß- und Zahlenbeziehungen;

- c) Möglichkeiten zur gegenseitigen Kontrolle und Ergänzung der gewonnenen Werte, die physiologisch weitgehend unabhängig voneinander sind;
- d) im Sinne der Versuche hinreichend gleichförmiges Substrat (*Azolla*) und hinreichend gleichförmige "Dosierung" der Versuchspflanze; (bei *Oscillatoria*-Versuchen werden schnell ausflockende und sich ballende Suspensionen benutzt und damit wird die "Substratsfrage" umgangen; derart reagierende Suspensionen sind schon mit *Phormidien*, geschweige denn mit *Nostocaceen* kaum herstellbar);
- e) die physiologisch empfindlicheren *Oscillatorien* sind in diesem Rahmen infolge ihrer morphologischen Armut kaum brauchbar.

Ehe die genannten, unten näher erläuterten Eigenarten der *A. azollae* durch Versuche ermittelt wurden, richtete sich die Aufmerksamkeit aus einigen anderen Gründen gerade auf diese Art. 1936 wurde in Mittelchile beobachtet, daß die in der dort gemeinen *Azolla caroliniana* lebende *Anabaena* verglichen mit freilebenden Arten nicht nur außergewöhnlich reich an Heterozysten war, sondern daß diese Heterozysten auch sonst nicht vorkommende einseitig polygonale Abplattungen zeigen, als ob sie sich der Oberfläche des Wirts besonders eng anschmiegen. 1944 wurde in Tsingtao an Material, das Herr Dr. H. Wilpert freundlicherweise aus Shanghai beschaffte, festgestellt, daß die *Anabaena* in *Azolla imbricata* etwas weniger reich an Heterozysten ist und daß ihre erwähnten Abplattungen völlig fehlen. Unabhängig davon gelang es etwa gleichzeitig auf harnhaltigem Agar *Scytonema julianum* fast heterozystenfrei zu züchten, während auf stickstoffarmen und—verarmten Nährböden reichlich Heterozysten gebildet wurden. Damit tauchte im Hinblick auf die von A. Oes, A. Limberger, K. Prantl, H. Molisch u. a. (vgl. 2) erörterte und größtenteils bejahend beantwortete Frage, ob *Nostocaceen* freien Stickstoff zu binden vermögen, die Vermutung auf, daß die Heterozysten der *Anabaena azollae*, die anscheinend eine besondere Bedeutung im Stoffwechsel der Symbiose haben, möglicherweise für die Stickstoffbindung entscheidend sind. Auch in diesem Zusammenhange erschien die bisher anscheinend noch nie versuchte experimentell mikromorphologische Prüfung von *Anabaena azollae* wünschenswert.

Da zur Zeit hier fachliche Literatur nur unvollständig und nur bis etwa 1940 erreichbar ist, konnten etwaige neuere Veröffentlichungen zum gleichen Thema nicht berücksichtigt werden.

Zwecks Raumersparnis werden außer den üblichen hier folgende Abkürzungen benutzt:

D Dauerzelle

|        |  |
|--------|--|
| Hz     | Heterozytse  |
| Z/Hz   | Hz-Quotient (vgl. S. 62)   |
| Iz     | Zellängen-Index in $\mu$   |
| lg, Lg | lang, Länge  |
| Ma     | mittlere Z-Länge bezogen auf Anzahlklasse  |
| M'a    | für nur teilungsreife und keine sich gerade teilenden Z enthaltende interheterozytale Tr-Abschnitte, vgl. S. 63. |
| Tr     | Trichom  |
| Z      | Trichomzelle   |
| $\phi$ | Durchmesser  |
| $\pm$  | mehr oder weniger  |

#### Material:

1. *Anabaena azollae carolinianae*: im Frühjahr und Sommer 1936 und später gemein an küstennahen Quellsümpfen bei Concon nahe Viña del Mar/Mittelchile; auch sonst in Mittelchile häufig. Die Maße stimmen nach den wenigen nur zur Artbestimmung vorgenommenen Messungen mit Straßburgers Angaben überein. Hz-Quotient Z/Hz = 3.4 (vgl. S. 62). Hz gewöhnlich einseitig polygonal abgeplattet (Abb. 1a) speichern bei Vitalfärbung Methylenblau erheblich stärker als Tr-Zellen.
2. *Anabaena azollae imbricatae*: Februar bis Mai 1947 aus einem Universitätsteiche und ab Anfang April von benachbarten Reisfeldern in Taipeh/Formosa; Ab April im Gebiete sehr gemein, vor allem auf Reisfeldern.

$\phi$

|                                     |         |                             |
|-------------------------------------|---------|-----------------------------|
| ausgewachsene Tr                    | 5.2-6.5 | Zell-Lg 1-1 1/4 mal $\phi$  |
| Hz-arme ausgewachsene Tr            | 4.0-5.5 | " "                         |
| Nachbarzellen von Hz                | bis 7.6 | " 1-1 1/2 mal $\phi$        |
| junge Hz-arme Tr                    | 5.2-5.7 | " neben Hz bis 2 mal $\phi$ |
| Hz-freie Kurztrichome               | 3.8-6.0 | meist um 4.2-4.5 $\mu$      |
| Keimlinge ohne Hz                   | 4.3-4.5 |                             |
| durch Strychninbehandl. Hz-freie Tr | 3.4-4.0 |                             |

Tabelle 1: Zell- $\phi$  frischen lebenden Materials

Vorstehende Tabelle gibt einen kurzen Überblick über die unverhältnismäßig stark schwankende Größe des Tr- $\phi$ . Abgesehen von der letzten Zeile handelt es sich nur um Werte von frischem lebendem Materiale vom natürlichen Standort (Universitätsteich und Reisfelder). Die letzte Zeile ist nur angefügt, um die ohnedies schon erkennbare Beziehung zwischen Hz einerseits und Tr- $\phi$  andererseits zu unterstreichen. Es handelt sich dabei um extrem niedrige Werte. (3 Tage Kultur der *Azolla* in 0.1% Stryc hin)

nitr. in bidest. Wasser erwies Strychnin als ausgesprochenes Hz-Gift, vgl. unten S. 71).

Verglichen mit freilebenden Arten sind die Hz,  $7.5\text{--}9.6 \mu \phi$  und  $8.4\text{--}12 \mu Lg$ , verhältnismäßig groß. Ihre Membran pflegt weniger verdickt zu sein, als dies bei den meisten freilebenden Arten der Fall ist. Sie zeigt oft auch keine positive Chlorzinkjod-Reaktion. Der Inhalt der Hz ist in der Regel noch blasser und mehr gelb—oder grünlich als der reifer Tr-Zellen und gewöhnlich, abgesehen von den Polen, ohne jede auffallende Granulation. Über die mannigfaltigen, oft typischen Bilder, die beim normalen Entwicklungsgange der Hz durchlaufen werden, soll später nach näheren Untersuchungen genauer berichtet werden.

Die in Tabelle 1 genannten Tr-Typen sind meist leicht und sicher zu unterscheiden. (Abb. 1b) Ausgewachsene Tr sind gewöhnlich blaß blaugrün mit geringem Farbunterschied zwischen Chromato- und Centroplasma und entbehren jeder größeren Granulation. Junge, meist Hz-arme Tr fallen im allgemeinen schon durch ihre intensivere blaugrüne Färbung und die relative Häufigkeit von in Bildung begriffenen Hz auf. Keimlinge sind bei meist hoher Teilungsfrequenz kurz, ihre Endzellen oft wesentlich kleiner. (Selbstverständlich wurden in Tabelle 1 verjüngte Tr-Enden nicht berücksichtigt und nur Werte für endferne Tr- $\phi$  aufgenommen). Die Herkunft und auch das Aussehen der Hz freien Kurz-Tr sind wohl nicht einheitlich; z. T. dürfte es sich um echte Keimlinge, also aus Einzelzellen oder möglicherweise auch aus dauerzellartigen freien Hz hervorgegangene Tr handeln, z. T. aber auch um weiter entwickelte Hz-freie Tr-Bruchstücke. Das Bild wird noch mannigfaltiger durch nicht seltene abweichende Zellformen, von denen vor allem die vorläufig als Großzellen bezeichneten Formen schon wegen ihrer relativen Häufigkeit in fast jedem Präparat erwähnt werden müssen. Bei  $6.5\text{--}9.5 \mu \phi$ , blaß blaugrüner, fast homogener Färbung und meist schwach, aber deutlich verdickter Membran werden sie einzeln oder in kurzen Ketten (bis etwa 12) angetroffen. Von Hz sind sie deutlich durch völligen Mangel jeder Membranschwellung an den Polen zu unterscheiden. Möglicherweise sind sie als dauerzellenartige Gebilde zu deuten.

Unter natürlichen Bedingungen sind am häufigsten ausgewachsene Tr mit einem Hz-Quotienten von 5 bis 5.3 zu finden. Sie sind mäßig gekrümmt, d. h. bei ziemlich gerade verlaufenden Zellstrecken an Hz deutlich stumpfwinklig geknickt. Außer den oben genannten Formen werden ferner oft Ansammlungen freier Hz gefunden, die nicht bei der Präparation entstanden sein können, sondern wohl Reste abgestorbener Tr darstellen. Bei gequollener Membran und fast völligem Schwund der polaren Struktur gewinnen diese Hz manchmal ein dauerzellartiges Aussehen. Zwei Funde

lassen vermuten, daß solche freien Hz. jedenfalls Keimlinge entwickeln können. Die wichtigsten der angeführten Tr- und Zellformen zeigt Abb. 1. Eine gut begründete Deutung dieser Formen wird wahrscheinlich erst möglich sein, wenn ihre Lagerung innerhalb der Blatthöhle von *Azolla* genauer bekannt ist. Abb. 2 gibt einen Überblick über die Hz-Maße. Vitalfärbungsversuche mit einer 0.05% Lösung eines Farbstoffgemisches von Methylenblau und Neutralrot im Verhältnis 1:2 zeigen, daß die Hz gewöhnlich langsamer und schwächer, seltener stärker als benachbarte Z speichern und sich in dieser Hinsicht jedenfalls stets abweichend von letzteren verhalten. Außerdem werden bei solcher Färbung häufig sich eben teilende Z deutlich hervorgehoben. Diesbezügliche Beobachtungen werden fortgesetzt und sollen später mitgeteilt werden. Es sei noch erwähnt, daß sich besonders kürzere Tr und Keimlinge ohne Drehung kriechend mit etwa 0.2/ $\mu$ /sec fortbewegen können.

Zusammenfassend ergibt sich also aus den mitgeteilten morphologischen Beobachtungen besonders im Hinblick auf das Heterozystenproblem folgendes:

1. Während freilebende *Nostocaceen* einen selten unter 20 sinkenden Hz-Quotienten aufweisen, beträgt derselbe bei *A. azollae imbricatae* 5 bis 5.3 und bei *A. azollae carolinianae* 3.4; niedrigere Werte kommen möglicherweise nur noch bei *A. cycadae* vor. (Die Unterscheidung von *A. azollae imbricatae* und *carolinianae* ist sowohl durch die erhebliche Abweichung im Hz-Quotienten wie durch die Verschiedenheit der Hz-Formen begründet.)
2. Obwohl echte Dauerzellen nicht mit Sicherheit gefunden werden konnten ist die Formenmannigfaltigkeit der Tr größer als bei freilebenden Arten.
3. Der Tr- $\phi$  ist weit größer als die durchschnittlichen Tr- $\phi$  freilebender Arten.
4. Zell- $\phi$  und damit auch Teilungsfrequenz werden deutlich von Hz beeinflußt. (Abb. 3, 4)

Versuche zeigten nun, daß unter Kulturbedingungen der *Azolla*-symbiont starke und vielseitige morphologische Abwandlungen erfahren kann, deren Art und Umfang Rückschlüsse auf die Wirkungsweise der abwandelnden Faktoren gestatten. Da bei laufenden Untersuchungen über die Spurenempfindlichkeit einiger *Oscillatoriiden* biologische Kontrollversuche an anderen Objekten sehr erwünscht waren, wurde auch aus diesem Grunde eine Analyse der morphologischen Veränderlichkeit von *Anabaena azolla imbricatae* begonnen.

Bevor über die dabei entwickelte Methode berichtet wird, sei noch kurz folgendes über jahreszeitliche Begrenzung im Taipehgebiet und

Verbreitung von *Azolla imbricata*, die wohl das gemeinste Unkraut der Reisfelder darstellt, angefügt: Hier beginnt die Vegetationsperiode ziemlich plötzlich Anfang April, während die Art in den Wintermonaten—Dezember bis März—nur auf sehr wenige geschützte Gewässer, so den erwähnten Universitätsteich, beschränkt zu sein scheint und auch dort in seinen Beständen von *Lemna* und Watten grüner Algen stark eingeschränkt wird. Nach mündlicher Mitteilung von Dr. H. Wilpert beginnt sich in Shanghai der Farn erst im Mai wieder zu entfalten und fehlt in der kalten Jahreszeit völlig. Im Gebiet von Tsingtao kommt *Azolla* nach eingehender Prüfung nicht mehr vor.

#### Zur Methode:

Einige einfache Kulturversuche mit *Azolla imbricata* ergaben, daß, wie gesagt, die kurz umrissene Formenmannigfaltigkeit der *Anabaena* zugleich sehr wandlungsfähig ist. Es kam also darauf an, festzustellen, in welcher Weise derartige Abwandlungen meß- und vergleichbar zu erfassen sind.

Nach den ersten Befunden schien die stark veränderliche Größe der Hz eine günstige Möglichkeit zu bieten, jedoch ergibt sich, daß die Hz-Durchmesser bei erheblicher Streuung ihrer Maße zu klein sind, um aus einer nicht zu großen Anzahl (etwa 100) Messungen einwandfreie Werte zu gewinnen. Zweifellos würden sich auch aufschlußreiche Daten ergeben, wenn es möglich wäre, die Mengenverhältnisse zwischen den verschiedenen erwähnten Tr-Bildungen und der Gesamtmasse von *Anabaena* bezogen auf *Azolla* vergleichbar zu messen, doch ist ein solcher Weg praktisch kaum gangbar. Dagegen wurde in der Häufigkeit der Hz im Verhältnis zu Tr-Zellen ein in jeder Hinsicht sehr brauchbarer Wert für unsere Zwecke gefunden. Dieser Wert wird als Hz-Quotient, Z/Hz bezeichnet. Bei seiner Gewinnung muß darauf geachtet werden, daß er auf ein physiologisch einheitliches Material bezogen ist, d. h. es müssen die von ausgereiften Tr auch morphologisch verschiedenen erwähnten Tr-Formen (junge und Hz-lose Tr) ausgeschlossen werden. Das ist in ziemlich einwandfreier Weise möglich, da bei der unten geschilderten Präparationsweise in genügender Menge ausreichend lange Tr und Tr-Stücke vorliegen und da außerdem der Hz-Quotient junger Tr, die schon morphologisch als solche kennbar sind, auffallend stark von dem reifer Tr abweicht. Er liegt etwa zwischen 10 und 15. Infolgedessen erwies es sich als angezeigt, für die Z/Hz-Rechnung nur Zellstrecken von 0 bis 12 Zellen zu verwenden und Tr mit längeren Zellketten auszuschließen. Außerdem sind die zwischen einer Hz und einem Tr-Ende liegenden Zellstrecken auszuschließen, da es in manchen Fällen kaum möglich ist zu entscheiden, ob ein solcher Abschnitt primär entwickelt wurde, sekundär durch Tr-Zerreißung oder erst bei der

Präparation entstand. Es werden mithin zur Berechnung des Hz-Quotienten alle zwischen zwei Hz, ausgereiften oder jungen, liegenden Zellstrecken ausgezählt, die weniger als 13 Zellen enthalten, sofern das betreffende Tr-Stück oder Tr nicht eindeutig als junges (Färbung, Mangel reifer Hz) erkennbar ist. Schon bei der Aufnahme der ersten Beobachtungsprotokolle zur Berechnung des Wertes für  $Z/Hz$  wurde eine überaus regelmäßige Häufigkeitsverteilung der Z-Anzahlen zwischen zwei Hz (vgl. Abb. 7-18) sichtbar. Während der Hz-Quotient in den ersten 2-3 Versuchstagen starke Abweichungen entwickeln kann und dann aber (nach etwa 4 Tagen) sich wieder  $\pm$ scharf auf seinen Normalwert eingependelt, läßt die erwähnte Häufigkeitsverteilung der Z-Anzahlen auch dann noch oft erhebliche Unterschiede erkennen. Obwohl bisher noch keineswegs eine volle Deutung dieser Erscheinung gelungen ist, ist sicher, daß ihre genaue Analyse mancherlei Aufschlüsse in der erstrebten Richtung bringen wird. Ferner bestätigten Meßreihen, was unmittelbare Beobachtung erkennen läßt: mit zunehmender Entfernung von Hz und mit zunehmender Z-Anzahl im interheterozystalen Abschnitte nimmt die mittlere Z-Lg (und der mittlere Z- $\phi$ ) ab. Gegen die Mittelwerte für Zellängen bezogen auf die Zellanzahl in den zwei Hz verbindendem Tr-Abschnitte (Ma) könnte eingewandt werden, daß die Veränderung der Z-Lg in Abhängigkeit von der Z-Anzahl zwischen zwei Hz nur durch größere Häufigkeit von Zellteilungen in längeren Zellstrecken vorgetäuscht werden könne. Deshalb wurde, wenigstens vorläufig, zur Kontrolle der Wert M'a, die durchschnittliche Z-Lg bezogen auf die Z-Anzahl zwischen 2 Hz unter außchließlicher Berücksichtigung solcher Zellketten, die nur teilungsreife und keine sich gerade teilenden Z enthalten, herangezogen. Wahrscheinlich würde der Vergleich der Z- $\phi$  erheblich genauere und feinere Unterschiede erfassen lassen, wenn dem nicht zwei Hindernisse entgegenstünden: einerseits sind die Z- $\phi$ - für mikrometrische Messungen zu statistischer Auswertung zu klein, und andererseits würde die methodische Durchführung noch dadurch beträchtlich erschwert, daß der  $\phi$  der Einzelzelle nach ihrer Entfernung von der nächsten Hz, nach ihrem eigenen Teilungszustande und nach der Entwicklungstufe einer etwa im gleichen Abschnitte entstehenden jungen Hz bestimmt ist. (Aus Untersuchungen, über die später berichtet werden soll, ergibt sich eindeutig, daß bei vielen, wenn nicht bei allen unbescheideten Nostocaceen- und Oscillatoriaceen-Tr der Z- $\phi$  in der Regel durch mechanische Membranqualitäten begrenzt wird, deren Belastung senkrecht zur Tr-Richtung bei Querwandeinschnürungen größer zu sein pflegt als in Tr-Richtung. Auch im Hinblick darauf ist der Z- $\phi$  bedeutsamer als die Z-Lg).

Bei den statistischen Untersuchungen wurde schließlich gefunden, daß

fast alle der durch Messung faßbaren Beziehungen zwischen Hz und Tr jedenfalls bei unmittelbarer Beobachtung schon zu erkennen sind. Zur besseren Übersicht ist es zweckmäßig, den weiteren Ausführungen diese Beobachtungen voranzustellen.

Präparation des Materials: Einige *Azolla*-Pflänzchen werden mit krummen Sonden oder Nadeln auf dem Objektträger in einigen Wassertropfen fein zerkleinert. Das zerkleinerte Material wird mit krummer Pinzette ausgepreßt und so vollständig entfernt, daß gegebenenfalls dann auch Beobachtung mit Ölimmersion möglich und das Objekt dafür nicht zu dick ist. Die Bearbeitung erfolgt sofort nach der Präparation. Beim Protokoll werden in die einzelnen Z-Anzahlklassen die jeweils gemessenen Lg der Zellstrecke eingetragen. Jede derartige Eintragung wird außerdem durch Unter- oder Überstreichungen im Hinblick auf folgende Merkmale gekennzeichnet: Teilungszustand, Vorkommen einer jungen Hz an einem Ende des Abschnitts, Unregelmäßigkeiten. Die Anzahlklassen im Protokoll reichen von 0 (Doppel-Hz) bis 12. Nachdem sich nunmehr zeigte, daß jedenfalls für junge Hz der Z/Hz auf einem anderen, graphischen Wege (vgl. Abb. 5) durch Berechnung der mittleren Anzahlabweichung zwischen den Zellketten beiderseits einer Hz bei Beschränkung auf Ketten zwischen 4 und 8 einfacher zu berechnen ist, wird versucht, obige Protokollform durch vereinfachte schematische Wiedergabe des Tr-Verlaufs zu ersetzen.

#### Zur Durchführung der Kulturversuche:

Bisher wurden nur die einfachsten Wege beschritten. *Azolla* vom natürlichen Standorte wurde in etwa 10 Exemplaren gleichzeitig in die zu vergleichenden wässrigen Medien übertragen. Es zeigte sich, daß anorganische und organische Wirkstoffe (z. B. Metallspuren in destilliertem Wasser, Colchicin, Strychnin u. a. in bidestilliertem Wasser) das Maximum ihrer morphologischen Einflüsse schon in 24 bis 48 Stunden entwickeln, während der volle Effekt verschiedener Nährlösungen anscheinend erst nach 3 oder 4 Tagen erreicht zu werden pflegt. Auch die *Azolla* selbst erfährt in vielen Fällen beachtenswerte Veränderungen. Außerdem scheint für *Anabaena* bedeutsam, ob *Azolla* mit Wurzeln oder nach Entfernung derselben in den Versuch eingesetzt wurde. Schließlich versprechen Kulturversuche auf feuchten Böden besonders ausgeprägte Ergebnisse. Es sei daran erinnert, daß es A. Limberger auf diesem Wege schließlich gelang, *Anabaena*-freie *Azollen* zu erhalten. Untersuchungen über die Anwendungsmöglichkeiten der mikromorphologischen *Anabaena*-Analyse für Bodenuntersuchungen und über die zweckmäßigste Anlage diesbezüglicher Experimente werden z. Z. von Prof. S. Yoshimura, Institut für angewandte Mikrobiologie, Univ, Taipeh, durchgeführt.

**Trichom und Heterozysten:**

Um von der morphologischen Seite einen Einblick in die Wechselbeziehungen zwischen Hz und Tr zu gewinnen, werden am besten zuerst junge, in Bildung begriffene Hz betrachtet. (Die folgenden Ergebnisse wurden ausschließlich an *A. azollae imbricatae* gewonnen. Vergleiche mit den Symbionten anderer *Azollen* stehen noch aus).—Die junge Hz entsteht etwa in der Mitte der zwischen zwei Hz liegenden Zellstrecke. In der Regel sind die folgenden Entwicklungsabschnitte zu unterscheiden:

1. Teilungshemmung in der Kettenmitte: kann sich auf eine bis drei, selten auf mehr Zellen erstrecken.
2. Durchmesservergrößerung der künftigen Hz: von dieser Schwellung mit gleichzeitiger Streckung wird meist nur eine Zelle betroffen, seltener nehmen an diesem Vorgange eine oder beide Nachbarzellen deutlich teil. Während sich eben die junge Hz als solche herauszuheben beginnt, ist manchmal kurz vorübergehend der Teilungszustand aller Zellen der betr. Tr-Abschnitts auffallend gleichförmig. Dabei scheint auch eine etwaige anfängliche Schwellung der Nachbarn zu schwinden. Der Ausgleich im Teilungszustande wird nur nach Durchsicht eines größeren Materials deutlich, weil ihm rasch eine ganz unverkennbare Teilungsbeschleunigung der Nachbarn der jungen Hz folgt, die bis dahin noch keinerlei Verfärbung ihres Inhalts erkennen zu lassen pflegt. Mit der Teilungsbeschleunigung geht gewöhnlich eine gut sichtbare  $\phi$ -Verminderung einher, "als ob die heranwachsende Hz ihren Nachbarn Membransubstanz entzöge."
3. Noch vor oder unmittelbar nach beginnender Verfärbung des Hz-Inhalts wird die Teilung der Nachbarzellen gehemmt und ihr Durchmesser meist deutlich vergrößert, sodaß in dieser Hinsicht gleiche Verhältnisse eintreten wie neben ausgereiften Hz.
4. Von den Polen her schreitet eine gelbliche Verfärbung des Hz-Inhalts langsam fort. Im äquatorialen Bereich kann für unbekannte Zeit eine Zone mit normal gefärbtem Chromatoplasma erhalten bleiben. Die Membranverstärkung dürfte mit dem Dicken- und Längenwachstum der Hz fortschreiten, ist oft aber kaum sichtbar, gewöhnlich jedoch deutlich. Stets vorhanden und ein sicheres Unterscheidungsmerkmal der reifen Hz von den unter 1.—3. angeführten Entwicklungstufen sind die polaren Membranverdickungen mit den ihnen meist aufgelagerten Granulae.

Die Lage der jungen Hz muß von der Mitte des Tr-Abschnitts abweichen, wenn dieser eine gerade Zahl von Zellen enthält, zeigt aber auch sonst nicht selten Abweichungen. Dabei pflegt die Entfernung zur größeren oder terminalen Hz größer zu sein als zur Hz auf der anderen Seite. Nur bei jungen Tr entstehen innerhalb eines interheterozytalen Tr-Abschnitts oder

Hz-losen Tr gleichzeitig mehrere Hz, die mehr als 6 Z. voneinander entfernt zu sein pflegen. Nähtere Prüfung der dort herrschenden Verhältnisse steht noch aus. Bei reifen Tr kann im Mittelbereiche eines interheterozystalen Abschnitts die oben unter 2. geschilderte Schwellung ausnahmsweise ein Zellpaar stark und scharf aus dem Tr hervorheben, während gewöhnlich beiderseits der zentralen Schwellung die Tr-φ mehr allmählich abnehmen. (Das Bild kann natürlich durch Unterschiede im Teilungszustande gestört sein). Ob die tatsächlich nicht seltenen Paare von reifen Hz nun aus solchen sehr seltenen durch Schwellung hervorgehobenen Zellpaaren entstehen, ist recht zweifelhaft. Dagegen sprechen einerseits die unterschiedlichen Häufigkeitsverhältnisse und andererseits der Umstand, daß reife Hz-Paare fast nur in sehr kurzen (2-3 Z) Tr-Abschnitten vorkommen. Es ist wahrscheinlich, daß die eine der beiden Hz eines solchen Paares jünger ist und nachträglich aus einer übermäßig geschwollenen Nachbarzelle entstand. Diese Parentwicklungen verdienen jedenfalls im Hinblick auf die Wechselwirkungen zwischen Hz und Tr nähere Untersuchungen. Es lassen sich in Größe und Aussehen nicht unterscheidbare Zwillings-Hz von Paaren mit ungleichen Maßen gut unterscheiden.

| Anzahl-<br>klasse | Häufigkeit |       |
|-------------------|------------|-------|
|                   | Anzahl     | %     |
| 2                 | 15         | 3.9   |
| 3                 | 31         | 8.1   |
| 4                 | 130        | 33.9  |
| 5                 | 50         | 13.0  |
| 6                 | 85         | 22.1  |
| 7                 | 20         | 5.4   |
| 8                 | 30         | 7.8   |
| 9                 | 7          | 1.8   |
| 10                | 10         | 2.6   |
| 11                | 2          | 0.5   |
| 12                | 4          | 1.0   |
|                   | 384        | 100.1 |

Tabelle 2: Häufigkeitsverhältnisse der Zellanzahl-Klassen von Trichomabschnitten, die an eine junge Heterozytze grenzen,

Während die anfängliche Schwellung den Mittelbereich einer interheterozystalen Zellstrecke gleichsam von außen—aus der Ordnung des Tr oder von den reifen Hz her—betrifft und jedenfalls nicht selbständig von den schwelenden Z erzeugt wird, ist die folgende beschleunigte Teilung der Nachbarzellen wohl als erste aktive Äußerung einer heranwachsenden Hz zu verstehen. (Vgl. zu vorstehendem Abschnitte Abb. 3 und 6)

Einblicke in die Lagebestimmung einer jungen Hz innerhalb eines interheterozystalen Abschnitts bietet die statistische Erfassung der Z-Anzahlen beiderseits einer jungen Hz. (Dabei werden stets Teilungsformen als zwei Zellen gezählt, sobald eine Querwand sichtbar ist, auch wenn noch keine Einschnürung auftritt). Ein an frischem Material von natürlichen Standorten im März und April

1947 für 192 junge Hz gewonnenes Ergebnis bringen Tab. 2 und Abb. 4-5. Es wurden dabei nur solche Hz berücksichtigt, die eben als solche sicher erkennbar sind, aber noch keinerlei von Trichomzellen abweichende Färbung oder Struktur ihres Inhalts und damit auch keinerlei Membranver-

dickungen zeigen. Die Häufigkeitsverteilung auf den 38 Feldern der Kombinationen von Zellanzahlen beiderseits junger Hz (Abb. 4) ist weder gleichförmig noch unregelmäßig. In 89.1% der Fälle (171) grenzt wenigstens einerseits an eine junge Hz eine Gruppe von 4, 6 oder 8 Z. In nur 2.1% der Fälle (4) ist die junge Hz beiderseits weniger als 4 Z von der nächsten Hz entfernt. 75% (144) aller Kombinationen liegen auf den folgenden 11 Feldern: 2/4, 3/4, 3/6, 4/4, 4/5, 4/6, 4/7, 4/8, 5/6, 6/6, 6/8. Diese deutlich bevorzugten Felder sind ausschließlich Kombinationen mit 4- und 6-Gruppen (57.3% bzw. 41.2%). Eine weitergehende Analyse der offensichtlichen Zahlenbeziehungen soll bis zum Vorliegen eines umfangreicheren Materials aufgeschoben werden. Zur Begründung des Folgenden ist nur noch auf einige Einzelheiten hinzuweisen: Da Zellteilungen auch während der Hz-Bildung, wenn auch oft in etwas abgewandelter Weise, fortschreiten, ist klar, daß etwa zwischen Kombinationen 2/4 und 4/8, 3/4 und 6/8, 4/6 und 8/12, aber auch zwischen 3/4 und 4/6 und anderen unmittelbare regelmäßige Entwicklungszusammenhänge bestehen.

Der aus Abb. 4 zu errechnende Z/Hz beträgt 5.25, stimmt also gut mit dem Durchschnittswerte für reife Hz überein, wobei jedoch zu beachten ist, daß der letztere aus praktischen Gründen für Anzahlgruppen von 0 bis 8 berechnet wird (vgl. S. 62). In nur 15% aller Fälle (29) liegt die junge Hz völlig symmetrisch, d. h. sind die Z-Anzahlen beiderseits gleich. Auch in diesen Fällen handelt es sich weit überwiegend (26 zu insgesamt 29) um Reihen von 4 und 6 Z. Andererseits sind nur 7.8% aller Kombinationen (15) so unsymmetrisch, daß die Z-Anzahl ber einen Seite mehr als doppelt so groß als die der anderen Seite ist, und zwar kommen derartig unsymmetrische Kombinationen nur vor, wenn die kleinere Zellkette 5 oder weniger Z enthält. In den meisten Fällen ist die Abweichung der Z-Anzahl zwischen den Abschnitten beiderseits der jungen Hz kleiner als 3 Z.

Die prozentuale Häufigkeit, in welcher die einzelnen Z-Anzahlklassen wenigstens einerseits an die junge Hz grenzen, veranschaulicht Abb. 5a. Die Maxima für 4- und 6-Gruppe würden sich noch merklich erhöhen, wenn die symmetrischen Kombinationen dieser Gruppen, wie sie in Tab. 2 enthalten sind, berücksichtigt wären. Auch ohnedies zeigt sich, daß dem absoluten Häufigkeitsmaximum der 4-Gruppe regelmäßig absinkende Maxima der höheren geradzahligen Gruppen folgen, während die ungeradzahligen dazwischen ebenso regelmäßig geordnete Minima bilden. Der Anstieg zum Hauptmaximum läßt bei 3-Gruppe einen leichten Knick erkennen, der der sekundären Minimumlage der höheren ungeradzahligen Gruppen entspricht. Die hohe Regelmäßigkeit der Häufigkeitsverteilung der geraden und ungeraden Anzahlgruppen, derzufolge über 71% aller Gruppen geradzahlige'sind,

beruht auf der auch während der Hz-Bildung nicht unterbrochenen Teilungstätigkeit im Tr-Abschnitte.

Wenn nun die junge Hz offenbar an einem morphologisch und statistisch in mehrfacher Hinsicht fixierbaren Platze eines interheterozystalen Tr-Abschnitts entsteht, so sollte dieser Befund sich durch Prüfung der durchschnittlichen Abweichungen der Zellanzahlen beiderseits einer jungen Hz am besten bestätigen lassen. Das Ergebnis eines solchen Versuchs am gleichen, also 192 junge Hz oder 384 Zellstrecken umfassenden Materials veranschaulicht Abb. 5b. Es ist hier abzulesen, daß die durchschnittliche Abweichung bei Gruppen zwischen 4 und 8 Zellen besonders regelmäßig ist. Die außerhalb dieses Bereichs erscheinenden Richtungsänderungen im Verlaufe der Linie beruhen wohl nur teilweise auf zu niedrigen Beobachtungszahlen und sollen später näher erörtert werden. Der oben errechnete Wert  $Z/Hz = 5.25$  wird hier unmittelbar graphisch bestätigt.

Von Abwandlungen des normalen Entwicklungswegs des jungen Hz sei nochmals auf die Paarbildung hingewiesen, die bei jungen Hz ziemlich selten zu sein scheint. Es kommt jedoch vor, daß der Anlauf zur Hz-Bildung für ein Zellpaar so weit fortschreitet, daß die folgende Teilung eines der Partner keine  $\phi$ -Verkleinerung mehr bewirkt. "als ob dann bereits eine irreversible Membranverstärkung stattgefunden habe." Weniger selten findet man an Plätzen für künftige Hz in der Einzahl gewissermaßen stecken gebliebene Formen, die bei deutlich vergrößertem Umfange nachträglich in Teilung übergeingen. Die sonst regelmäßige starke Einschnürung zwischen zwei Z kann in solchem Falle mehr oder weniger vollständig unterbleiben ("irreversible Membranverstärkung?"). Im äußersten Falle entstehen Riesenwillingszellen von der Größe normaler Hz aber mit allen Kennzeichen echter Tr-Z. (Solche Formen entstehen nicht selten bei mehrtägiger Kultur der *Azolla* in 50% Benecke-Lösung).

Insgesamt wurde bisher viermal beobachtet, daß zwischen zwei reifen Hz nur eine Tr-Z lag. Die Häufigkeit dieser Erscheinung dürfte etwa 1:10.000 betragen). Der Abstand zwischen jungen Hz wurde jedoch, abgesehen von den seltenen echten Zwillingen, niemals kleiner als 2 Z gefunden.

Es erschien unvermeidlich die Verhältnisse bei jungen Hz eingehender zu behandeln, da so die folgenden Mitteilungen über reife Hz am besten hinreichend begründet werden können; denn bei jungen Hz sind etwa nachträglich zwischen reifen Hz auftretende Änderungen der Verhältnisse weitgehend ausgeschlossen.

Eine schematische Übersicht dessen, was sich über Beziehungen zwischen Tr-Bau und Hz leicht durch unmittelbare Beobachtung bestätigen läßt, verdeutlicht Abb. 3. Jedes der dort wiedergegebenen Tr oder Tr-Stücke

erläutert einen mehr oder weniger häufig vorkommenden Befund. In der schematischen Darstellung werden die normalerweise gekrümmten oder geknickten Tr gestreckt wiedergegeben. Unberücksichtigt blieben absolute Maße und Färbungsunterschiede, dagegen wurden vor allem beachtet: Unterschiede in Größe und Teilungszustand der Z und Größenunterschiede der Hz. Übereinstimmend mit vorstehenden Mitteilungen drängt sich nun der Schluß auf, daß Hz eine entscheidende Rolle für Wuchsform und Stoffwechsel der Alge spielen. Näheres darüber wird sich aus Beobachtungen über die frei von *Azolla* kultivierte *Anabaena* ergeben. Solche Kulturen werden derzeit von Prof. T. Soma, Botan. Institut dieser Universität, entwickelt. Nur um erst einmal den vielfältigen Erscheinungen eine bessere Übersichtlichkeit zu verleihen, sei gestattet eine Hilfsvorstellung einzuführen: Die Tr-Abschnitte zwischen zwei Hz verhalten sich so, als ob von den Hz ein Impuls ausgegebe, der in geringeren Stärken teilungsfördernd und in größeren  $\phi$ -vergrößernd wirkt. Unmittelbar neben und durch Addition in der Mitte eines interheterozystalen Abschnitts wäre dann eine Schwellung, in den Zwischenbereichen eine  $\pm$  erhöhte Teilungstätigkeit zu erwarten. Die Reichweite dieses Impulses wäre auf etwa 6 Z beschränkt zu denken, sodaß auch an Tr-Enden, also ohne summierende Wirkung einer Hz von der anderen Seite in entsprechender Entfernung von der endnächsten Hz gewissermaßen eine Akkumulation des Impulses stattfinden kann. Die Entstehung echt terminaler Hz wäre als vereinfachter Sonderfall dieser Akkumulation zu verstehen. Diese Hilfsvorstellung würde sich auch auf jene, besonders bei jungen Tr häufigen Fälle anwenden lassen, bei welchen in längeren interheterozystalen Tr-Abschnitten ( $> 14$  bis 16 Z) oft gleichzeitig zwei ziemlich symmetrisch liegende junge Hz angelegt werden. Nähere Prüfungen über Entstehung der ersten Hz und die folgenden Vorgänge an jungen Tr und Keimlingen stehen noch aus. Es scheint so, als ob bei fortschreitender Schwellung einer künftigen Hz schließlich die bis da hin leicht reversible Membranverstärkung  $\pm$  irreversibel wird, wie aus manchmal auftretenden und durch Mangel an Querwandeinschnürungen ausgezeichneten nachträglichen Teilungen solcher Schwelldformen zu schließen ist. Derart abweichendes Verhalten scheint eine Ursache für die Bildung der erwähnten Riesenzwillingszellen zu sein.

Abgesehen davon, daß bei den etwa 10 bis 20 mal häufigeren reifen Hz Paare nicht selten und ausnahmsweise auch nur aus einer Z bestehende interheterozystale Abschnitte vorkommen, unterscheiden sich Zahlen-, Lage- und aus morphologischer Beobachtung zu erschließende Wirkungsverhältnisse nicht grundsätzlich von dem, was sich aus Untersuchungen über junge Hz ergab. Von den aus Vorstehendem ohne weiteres verständlichen Entwick-

Jungsbeziehungen zwischen verschiedenen Anzahlklassen gibt für symmetrische Formen Abb. 6 ein schematisches Bild.

Für morphologisch-statistische Prüfungen von *A. azollae imbricatae* zum Zwecke experimentell-ökologischer Auswertung sind nach den bisherigen Beobachtungen folgende von einander weitgehend unabhängigen und sich z. T. ergänzenden, z. T. kontrollierenden Sachverhalte mit verhältnismäßig geringem Aufwande an Zeit und Mitteln erfassbar:

**1. Hz-Quotient:**  $Z/\text{Hz}$  wird erfahrungsgemäß am besten nur für Zellstrecken von 0 (Hz-Paare) bis 8 berechnet. Damit werden noch nicht sicher deutbare Teilungsanomalien in den nicht häufigen längeren Abschnitten und vor allem nach Hz-arme junge Tr., Keimlinge und Kümmerformen am sichersten ausgeschlossen. Die verworfenen Abweichungen könnten, zumal sie sehr verschiedener ursächlicher Herkunft sind, den methodischen Wert des  $Z/\text{Hz}$  nur vermindern.

**2. Zellängen-Index und mittlerere Zellängen bezogen auf Anzahlklassen:** Iz ist ein Maß für das Verhältnis zwischen Zellgröße und Teilungsfrequenz. Ma gibt die entsprechenden Werte für die genügend stark besetzten Anzahlklassen 3-6 und 8 an und lässt Hz Einflüsse auf Tr-Bau erkennen. Ma ist dagegen ein unmittelbarer Ausdruck für die mit den ökologischen Bedingungen erheblich veränderliche Größe teilungsreifer Z, denn nur diese werden zu seiner Gewinnung herangezogen. Da die Anzahlklassen über 6 oft sehr spärlich besetzt sind und die Einbeziehung der 0-Klasse (Hz-Paare), die ja im  $Z/\text{Hz}$  und vor allem im Häufigkeitsdiagramme der Anzahlklassen enthalten ist, nicht sinnvoll wäre, werden die Zellängen-Indizes nur aus den Anzahlklassen 2 bis 6 berechnet. (Die Einbeziehung höherer Klassen verbietet sich nicht nur wegen deren geringer Besetzung, sondern auch wegen der in ihnen besonders großen, vor allem durch Bildung junger Hz verursachte Streuung der Werte). Iz gibt also die mittlere Entfernung reifer oder deutlich als solcher erkennbarer junger Hz (S. 65 Nr. 3 gibt den hier maßgebenden Grenzzustand an) voneinander für interheterozystale Abschnitte von 2 bis 6 Z in  $\mu$  an.—Die durchschnittliche Z-Länge für die einzelne Anzahlklasse (Ma und Ma) lässt die in Versuchen beträchtlich veränderlichen Einflüsse der Hz auf die Tr-Zellen erkennen. In der Regel ist die mittlere Z-Lg umso kleiner, je mehr Z in einem interheterozystalen Abschnitte enthalten sind. Das gilt mit Sicherheit nur bis zur Anzahlklasse 3. Bei höheren Klassen, die gewöhnlich für solche Ermittlungen zu selten sind, können sich im Zusammenhang mit der Entwicklung junger Hz Schwellungen im Mittelbereiche bemerkbar machen.

**3. Häufigkeitsdiagramm der einzelnen Anzahlklassen von 0 bis 12:** Die Verteilung der Klassengrößen ergibt recht charakteristische Bilder. Abgesehen

davon, daß in diesem Diagramme sich das Verhältnis der geradzahligen zu den ungeradzahligen Anzahlklassen und damit ein Maß der allgemeinen Teilungsfrequenz ausdrückt, erfordert eine ursächliche Deutung aller darin enthaltenen Daten noch genauere Untersuchungen anhand eines größeren Materials.

**4. Das Anzahlverhältnis zwischen reifen und jungen Hz** dürfte bei näherer Prüfung gleichfalls noch wesentliche Beiträge zu derartigen Analysen bringen.

Dagegen sind nach bisherigen Erfahrungen für die gewünschten Zwecke untauglich: Z-Anzahlen zwischen einer Hz einerseits und dem oft nicht sicher als solches erkennbaren natürlichen Tr-Ende andererseits und ferner die Anwendung der oben erörterten Bestimmungen auf junge und Keimlingstrichome, die glücklicherweise gewöhnlich sehr leicht schon an Färbung und Struktur zu erkennen sind.

#### Über einige Versuchsergebnisse:

Da nur ein Teil der vom Kulturmedium im Versuche ausgehenden Wirkungen auf *Anabaena* in den statistischen mikromorphologischen Aufnahmen und ihren als Diagramme dargestellten Ergebnissen sichtbar wird und da andererseits beide Partner der Symbiose mancherlei leicht erfassbare Veränderungen erfahren können, ist es ratsam auch solche zu vermerken. Dazu hier nur einige vorläufige Anmerkungen: Da *Azolla* mit ihrem Symbionten mindestens 10 Tage, also ausreichend lange, auf bidestilliertem Wasser haltbar ist und in gutem Zustande bleibt, dürfte dieses für Untersuchungen über organische und anorganische Wirkstoffe im allgemeinen ein geeignetes Vergleichsmedium sein. Im Vergleiche mit Frischmaterial vom natürlichen Standorte (Universitätsteich) zeigt bidestilliertes Wasser nach spätestens 2-3 Versuchstagen folgende Wirkungen: kräftige Vermehrung und Vergrößerung der Hz, die bei verhältnismäßig dünnen Membranen beinahe dauerzellenartiges Aussehen annehmen können. Der Teilungsrhythmus wird nicht erkennbar gestört. Manchmal treten, wohl als Reste abgebauter Tr. stellenweise gehäufte Ansammlungen freier Hz auf, die gleichfalls D-artig aussehen. *Azolla* kann reichlich neue Wurzeln entwickeln, während die alten nicht abgeworfen werden. Ihr Sproßsystem zerfällt nicht in Teilstücken.—Dagegen werden in destilliertem Wasser (verzinntes Gerät) alte Wurzeln abgeworfen und reichlich neue gebildet. Der Sproßzustand pflegt ungeschädigt auszusehen. *Anabaena* zeigt neben auffallenden Hz-Schädigungen (s. unten) mancherlei Unregelmäßigkeiten in der Teilungstätigkeit. *Strychninum nitr.*, 0.05 bis 0.1% in bidest. W., verursacht besonders heftige Hz-Schädigungen. Die dann sehr häufigen oder vorherrschenden Hz-freien

Tr. haben ungewöhnlich geringe  $\phi$  (vgl. Tab. 1) und zeigen meistens einen ziemlich gleichförmigen Teilungszustand ihrer Z (Einfluß der Hz auf Teilungsrythmus und Tr- $\phi$ ). Auch *Azolla* wird schwer geschädigt und bildet bei zerfallendem Sproßsystem und mehr oder weniger völligem Wurzelverluste ohne Neubildung derselben reichlich rotes Pigment in ihren Blättchen.—Colchicin (Merck), 0,06% in bidest. W., hemmt die Wurzelneubildung und stört den Geotropismus der Wurzeln. Das Sproßsystem wird verhältnismäßig wenig in Mitleidenschaft gezogen. Bei *Anabaena* wird eine kräftige Stimulation der Zellteilung ausgelöst, ohne daß Unregelmäßigkeiten stärker auffallen. Hz werden nicht sichtbar geschädigt, endständige Hz deutlich vermehrt. (Boas, a. a. o. S. 97, erzielte mit Colchicin bei einem *Nostoc* Anregung der D-Bildung).—Indolessigsäures Kalium, 0,02 in bidest. W., läßt bei starker Erhöhung der Teilungsfrequenz die Tr-Enden kräftig anschwellen. Das Sproßsystem von *Azolla* wird in einem Grade aufgelockert, daß man geradezu von einer Sprengung desselben sprechen kann, während die Wurzelbildung deutlich gehemmt ist.—Im abgestandenen Regenwasser eines Zementbehälters im Institutsgarten zeigt *Anabaena* schon nach 1 bis 2 Tagen eine unmittelbar auffallende Vergrößerung, vor allem Verlängerung der Tr-Z. In 25–50% Benecke überwiegen Hz-Schädigungen und Teilungstörungen (dest. W.—Wirkung?).—Auch aus weiteren Versuchsreihen ist zu entnehmen, daß die Hz häufig viel empfindlicher sind als Tr-Z. Ihre Schäden sind im Anfang meist an einer klaren Quellung der äußeren Membranschicht, die später abzublättern beginnt, zu erkennen. Gleichzeitig oder etwas später wird Vakuolisierung und Granulierung des Hz-Inhalts, oft verbunden mit Verfärbungen, sichtbar.

Ohne weiteren Prüfungen im einzelnen vorzugreifen, sei noch erwähnt, daß auf Faulschlammwasser die *Anabaena*-Zellen wohl infolge Turgorverminderung mehr rechteckig werden. Bei Lichtmangel findet eine Hemmung der Teilungstätigkeit statt. Aus einwöchigen Kulturversuchen zwischen 30 und 47° (bei täglich stark schwankenden Temperaturen) ergibt sich, daß *Anabaena* jedenfalls mehrere Stunden lang eine Wassertemperatur (im abgedeckten Gefäß) von 47° erträgt, bei welcher auch *Azolla* nur wenig geschädigt wird. Über die dabei auftretenden mannigfaltigen mikromorphologischen Abwandlungen der *Anabaena* kann erst nach weiteren Versuchen berichtet werden.

Die folgenden Diagramme mit den zugehörigen Erläuterungen bieten einige Hinweise auf die sich vielleicht erschließenden Anwendungsmöglichkeiten für experimentell ökologische Kennzeichnungen verschiedener Faktoren.

Die Diagramme, Abb. 7 bis 18, enthalten die prozentuale Häufigkeits-

verteilung der Anzahlklassen, (die Werte der ungeradzähligen Klassen sind zur besseren Hervorhebung durch eine gestrichelte Linie verbunden) Z/Hz, Iz und die Werte für  $M_3$ - $M_6$  und  $M_8$ . Einwandfreie M-Werte für die übrigen Klassen würden wahrscheinlich nichts wesentlich Neues mehr bringen und sind nur durch erheblich umfangreichere Meßreihen zu gewinnen, da diese übrigen Anzahlklassen entweder nur sehr spärlich besetzt sind oder wegen beginnender Hz-Bildung zu weit aus dem Rahmen fallen. Zwecks Raumsparnis wird der Aufbau der Diagramme unmittelbar anhand der Abbildungen 7 bis 9 erläutert. Z/Hz wurde aus dem Protokoll berechnet, wird sich aber künftig vielleicht auf graphischem Wege richtiger und einfacher erfassen lassen (Abb. 5 Z/Hz für junge Hz auf graphischem Wege).—Von der umfangreichen tabellarischen Wiedergabe aller einzelnen Zählungs- und Meßdaten wird hier abgesehen, indem den Diagrammen nur die wichtigsten Werte beigelegt werden. Diese Beschränkung möge gestattet sein, da Zweck vorliegender erster Mitteilung ja nur die Darstellung der methodischen Grundlagen ist, für deren Verständnis die mitgeteilten Daten ausreichen dürften, und da überdies spätere Veröffentlichungen zum gleichen Thema die ausführlichen Tabellen zu Einzeluntersuchungen bringen sollen.

**Abb. 7:** 6. Apr. 1947 Frischmaterial aus Universitätsteich Taipeh.  
insgesamt 100 Z-Ketten    Z/Hz: 5.02    Iz: 27.8  $\mu$   
 $M_3$ : 6.26  $\mu$      $M_4$ : 6.30  $\mu$      $M_5$ : 6.04  $\mu$      $M_6$ : 5.90  $\mu$      $M_8$ : 5.17  $\mu$ .

**Abb. 8:** 6. bis 8. Apr. 47, in Regenwasserbecken im Ingstitutsgarten.  
insgesamt 100 Z-Ketten    Z/Hz: 5.26    Iz: 30.6  $\mu$   
 $M_3$ : 7.45  $\mu$      $M_4$ : 6.55  $\mu$      $M_5$ : 6.65  $\mu$      $M_6$ : 6.55  $\mu$      $M_8$ : 5.35  $\mu$ .  
Erhebliche Vergrößerung der Zellen, relative Verminderung der Hz bei gleichzeitiger Vergrößerung der interheterozystalen Z-Strecken. Die Teilungstätigkeit ist zugunsten des Z-Wachstums verringert (relative Häufigkeit der ungeradzähligen Anzahlklassen). Der steile Abfall der M-Werte mit steigender Anzahlklasse deutet auf starke Hz-Tätigkeit.

**Abb. 9:** 9. bis 12. Apr., in bidestilliertem Wasser.  
insgesamt 80 Z-Ketten    Z/Hz: 4.98    Iz: 26.6  $\mu$   
 $M_3$ : 0.85  $\mu$      $M_4$ : 5.95  $\mu$      $M_5$ : 5.85  $\mu$      $M_6$ : 5.60  $\mu$      $M_8$ : 5.40  $\mu$ .  
Vermehrung der Anzahlklassen 5 und 7 deutet auf einsetzende verstärkte Hz-Bildung, während Z/Hz erst wenig erniedrigt ist. Der Hz-Abstand (Iz) hat sich merklich verringert.

**Abb. 10:** 9. bis 12. Apr., in destilliertem Wasser (verzinntes Gerät):  
insgesamt 100 Z-Ketten    Z/Hz: 5.37    Iz: 27.8  $\mu$   
 $M_3$ : 6.65  $\mu$      $M_4$ : 5.75  $\mu$      $M_5$ : 5.50  $\mu$      $M_6$ : 5.80  $\mu$      $M_8$ : 5.30  $\mu$ .  
Die Verminderung der Hz-Anzahl beruht auf stark erhöhter und

oft unregelmäßiger Teilungsfrequenz. Wenn trotzdem gleichzeitig ein beträchtliches Z-Wachstum stattfindet (vgl. Abb. mit voriger Abb.), so kann es nur auf Kosten der einige Tage später sichtbar geschädigten *Azolla* geschehen. Daß es sich nicht um Zellvergrößerungen durch Turgoränderung infolge von Konzentrationsunterschieden handelt, zeigt der Vergleich mit Abb. 9.

**Abb. 11:** 9. bis 12. Apr., in bidestilliertem Wasser mit 0.06% Colchicin (Merck):

insgesamt 125 Z-Ketten Z/Hz: 5.25 Iz: 27.7  $\mu$   
 $M_3: 0.35 \mu M_4: 5.90 \mu M_5: 6.10 \mu M_6: 5.60 \mu M_8: 5.10 \mu$

Hz-Paare sind merklich vermehrt. Ähnlich wie im destillierten Wasser dürfte auch hier das Tr-Wachstum z. T. auf Kosten der *Azolla* geschehen. Dafür spricht auch das folgende Diagramm, das vom gleichen Materiale nach 24-stündiger Versuchsdauer gewonnen wurde.

**Abb. 12:** 9. bis 10. Apr., wie Abb. 11:

insgesamt 90 Z-Ketten Z/Hz: 6.25 Iz: 28.6  $\mu$   
 $M_3: 7.15 \mu M_4: 6.10 \mu M_5: 5.75 \mu M_6: 5.65 \mu M_8: 5.90 \mu$

Bei starker relativer Hz-Verminderung, die durch stimulierte Teilungstätigkeit bedingt ist, werden die Z erheblich vergrößert. Die das Z-Wachstum fördernde Hz-Wirkung erstreckt sich hier vorwiegend über eine Strecke von 3 Zellen, wie aus der ziemlich gleichförmigen Abnahme der Z-Lg bis zur Anzahlklasse 6 geschlossen werden kann. (Auffallende Ähnlichkeit 7 der Ma-Werte mit Abb. 15!) Ferner spricht bei gleichzeitiger Häufigkeitsverminderung der Anzahlklasse 4 die starke Besetzung der Anzahlklassen 6 und 7, in welch letzterer Hz-Bildung beginnt. Die Entwicklungen pflegen dabei bevorzugt in der auf Abb. 12 angedeuteten Weise zu laufen. Auf diesem Wege müssen, wie Abb. 11 bestätigt, bei wieder absinkendem Z/Hz bevorzugt 4-, 6- und bei anhaltend hoher Teilungsfrequenz 8-Ketten entstehen.

**Abb. 13:** 9. bis 12. Apr., in destilliertem Wasser, das vorher 24 Stunden mit 1 Löffel Knochenkohle (Kahlbaum) je 5 Liter angesetzt wurde:

insgesamt 100 Z-Ketten Z/Hz: 5.05 Iz: 27.8  $\mu$   
 $M_3: 6.55 \mu M_4: 6.00 \mu M_5: 6.50 \mu M_6: 5.95 \mu M_8: 5.25 \mu$

Die Kohle bewirkt anscheinend nur teilweise Entgiftung destillierten Wassers, wie Vergleich mit Abb. 9-10 ergibt. Die Häufigkeitsverhältnisse der 4- und höheren geradzahligen Klassen sind denen bei bidestilliertem Wasser sehr ähnlich, aber zugleich weisen Iz, Z/Hz und starkes Zurücktreten der ungeradzahligen Klassen auf

Ähnlichkeiten mit unbehandeltem destilliertem Wasser hin.

**Abb. 14:** 9. bis 12. Apr., in bidestilliertem Wasser mit 0.02% indolessigsaurerem Kalium; insgesamt 90 Z-Ketten Z/Hz: 4.55 Iz: 26.0  $\mu$

$M_3: 6.75 \mu M_4: 5.70 \mu M_5: 5.80 \mu M_6: 5.80 \mu M_8: 5.85 \mu$

Im beträchtlichen Absinken des Z/Hz bei gleichzeitiger Vermehrung der Hz-Paare wird als Hauptwirkung eine stark gesteigerte Hz-Bildung sichtbar.

**Abb. 15:** 27. März bis 5. Apr., in 50% Benecke-Lösung ohne N-Salze;

insgesamt 100 Z-Ketten Z/Hz: 5.40 Iz: 28.0  $\mu$

$M_3: 6.85 \mu M_4: 5.90 \mu M_5: 5.70 \mu M_6: 5.65 \mu M_8: 5.95 \mu$

Wegen zu langer Versuchsdauer ist bei diesen und den folgenden Diagrammen nur auf einige besonders auffällige Merkmale hinzuzweisen. Starke Stimulierung des Hz-Einflusses auf Z-Größe (vgl. Abb. 12) bei überdurchschnittlich hohen Werten der Z-Lg. Die Höhe von Z/Hz ist nur infolge Beschränkung auf Anzahlklassen 0-8 bedingt, während das Material überdurchschnittlich reich an großen Anzahlklassen ist (zu lange Versuchsdauer).

**Abb. 16:** 27. März bis 5. Apr., in 50% Benecke;

insgesamt 100 Z-Ketten Z/Hz: 5.15 Iz: 24.9  $\mu$

$M_3: 6.05 \mu M_4: 5.60 \mu M_5: 5.30 \mu M_6: 5.35 \mu M_8: 5.20 \mu$

Geringere Hz-Wirkung auf die verhältnismäßig kleinen Z.

**Abb. 17:** 27. März bis 5. Apr., in 50% Benecke, Ammoniumnitrat durch gleiche Menge Urea ersetzt;

insgesamt 100 Z-Ketten Z/Hz: 5.63 Iz: 27.2  $\mu$

$M_3: 6.35 \mu M_4: 5.65 \mu M_5: 5.50 \mu M_6: 5.25 \mu M_8: 4.80 \mu$

Sehr geringe Hz-Häufigkeit bei starkem Einfluß derselben auf verhältnismäßig kleine Z.

**Abb. 18:** 27. März bis 5. April 1947, in 50% Benecke, Ammoniumnitrat durch gleiche Menge Natriumnitrat ersetzt;

insgesamt 100 Z-Ketten Z/Hz: 5.65 Iz: 29.5  $\mu$

$M_3: 6.25 \mu M_4: 6.50 \mu M_5: 6.00 \mu M_6: 6.05 \mu M_8: 5.90 \mu$

Nachhaltige Nitratwirkung mit erheblicher Verminderung der Hz, die auf die durchweg großen Tr-Z kaum noch einen Einfluß ausüben.

Der wesentlichste Mangel der in Abb. 15-18 mitgeteilten Stickstoffversuche liegt in der zu langen Versuchsdauer, zumal auch weitere Diagramme dieser Serie darauf hindeuten, daß bakterielle Begleiter abwandelnd in die Vorgänge eingreifen.

Der Zweck der vorstehenden Diagramme ist erfüllt, wenn sie darzutun

vermögen, daß die Mannigfaltigkeit und Regelmäßigkeit der Reaktionsweisen von *Anabaena azollae imbricatae* allem Anscheine nach für biologische Testzwecke in mehrfacher Hinsicht günstige Anwendungsmöglichkeiten verspricht. Die Entwicklungsmöglichkeiten der Methode für bodenkundliche Zwecke werden, wie erwähnt, von Prof. S. Yoshimura derzeit untersucht. Bei Verwendung der Symbiose im Rahmen pharmakologischer Untersuchungen wäre mehr, als das bisher geschah, vor allem die Hz selbst wegen ihrer hohen Empfindlichkeit zu beobachten.

#### Zusammenfassung :

1. Anhand mikromorphologischer Analysen von Freiland- und Versuchsmaterial wird nachgewiesen, daß die Heterozysten bei *Anabaena azollae imbricatae* für deren Stoffwechsel (und wohl auch für den des Farns) eine bedeutende Rolle spielen. Die Aufgaben der Heterozysten sind danach vor allem im Bereich des N-Stoffwechsels und der Membranbildung zu suchen.
2. In den statistisch erfaßbaren mikromorphologischen Merkmalen (Heterozystenquotient, Zellängen-Index, durchschnittliche Zellänge je Anzahlklasse und Häufigkeitsdiagramm der Anzahlklassen) sind einige, physiologisch teilweise voneinander unabhängige Größen gegeben, die sich durch eine größere Reihe von Faktoren experimentell abwandeln lassen.
3. Da bei einfacher Arbeitsweise gut vergleichbare Ergebnisse erzielt wurden, wird versucht, die Methode in zwei Richtungen für angewandte Zwecke weiterzuentwickeln: bodenkundliche Testmöglichkeiten (Yoshimura) und Spurenstoffteste im Rahmen der laufenden Oscillatoriens Untersuchungen (Schwabe).
4. *Anabaena azollae imbricatae* ist morphologisch nicht identisch mit *A. a. caroliniana*.

#### Literatur :

1. F. Boas, 1942, Dynamische Botanik.—München,
2. H. Molisch, 1926, Pflanzenbiologie in Japan auf Grund eigener Beobachtungen.—Jena.—(Hier auch Hinweise auf Strassburger, Oes, Limberger).
3. G. H. Schwabe, 1947, Blaualgen und Lebensraum, I.—Beiträge zur Ökologie und Systematik.—Act. Bot. Taiw. National Taiwan University, Vol. I, No. 1.—(Im Druck).
4. ders., 1947, Über Lebendreaktionen einiger Nostocales (Cyanophyceae).—Arts and Science, Vol. XVII, No. 6, Shanghai.—(Im Druck).

Taipei, den 10. Mai 1947.

**Abb. 1a:** *Anabaena azollae caroliniana*, Concon bei Vina del Mar/Zentralchile; Helokrene, frisches lebendes Material (zu S. 59). A: r-

Stück mit einseitig polygonal abgeplatteten Hz (mit Abbe' schem Zeichenapp., Zeiss Apochr. 40, Ok. 12x, auf der Höhe des Arbeitstisches).—B: Tr-Stück aus dem gleichen Bestande (Immersion 90, sonst wie A).—Bei *An. az. imbricatae* ist der Zellinhalt gewöhnlich viel gleichförmiger; Querwandkörnchen bei *imbricatae* nur häufiger nach mehrtägiger Kultur in Regenwaser (Abb. 1b, E) sonst selten, Granulae in Zentroplasma oder am Rande desselben werden erzielt, wenn *Azolla imbricata* bei höheren Temperaturen (40–45°) kultiviert wird, wobei, der Farn erheblich stärker geschädigt wird als seine *Anabaena*-Hz-Membranen bei *carolin.* anscheinend etwas stärker als bei *imbr.*

**Abb. 1b:** *Anabaena azollae imbricatae*, Taipeh, April bis Mai 1947, frisches lebendes Material (zu S. 60 ff).—A: 2 Stücke reifer Tr, die den Hz-Einfluss auf Nachbarzellen deutlich zeigen; oberhalb des Knicks Vorbereitung zur Hz-Bildung.—B: Die Nachbarzelle einer echt terminalen Hz wird stärker vergrößert.—C: Junge Hz in symmetrischer Lage.—D: Junges Tr, 4.0  $\mu \phi$ , mit für diese Entwicklungsstufe typischer junger Hz.—E: Stark verlängerte Zellen mit Querwandkörnern nach 2 Kulturtagen in Regenwasser-Behälter im Instituttsgarten. Der interheterozystale Abschnitt ist 32.5  $\mu$  lg. In den beiden Hz verschiedener Größe (Einfluß auf die Zellgröße!) ist die noch erkennbare Chromatoplasma-Zone durch Punktierung angedeutet.—F: Hz-loses Kurztrichom, 3.8  $\mu \phi$ , 28  $\mu$  lg.—G: 2 Ketten von Riesenzellen, deren größte bei deutlich verdickter Membran 10  $\mu \phi$  haben.—H: "Keimende" Hz aus Regenwasserkultur, 2 Tage; die fast kugelige Hz (8.7  $\mu \phi$ ) hat einen gelblichen ziemlich homogenen Inhalt und läßt keine Zonierung erkennen. Die Membran ist auffallend dünn und ihre polaren Verstärkungen sind untypisch (flacher und breiter) entwickelt. Die an den Polen sitzenden zwei Z sind bei 2.5  $\mu \phi$  lebhaft blaugrün. Ähnliche Bilder in der gleichen Kultur mehrfach.—Die Zeichnungen der Abb. 1b wurden mit Immersion 90 und Ok. 15 ohne Zeichenapparat angefertigt, nachdem sich für diesen die Tr-Bewegung wiederholt störend bemerkbar machte.—

**Abb. 2:** Diese und alle folgenden Abbildungen beziehen sich auf *An. az. imbr.* Häufigkeitsdiagramm der Hz-Längen und Korrelation zwischen  $\phi$  und Lg reifer Hz nach 120 Hz-Messungen an frischen lebenden Pflanzen, März 1947. Die scheinbare Zweigipfligkeit der Häufigkeitsverteilung beruht sehr wahrscheinlich auf einem statistischen Meßfehler: bei Verwendung von Immersion 90 und

Meßokular 15x und Messung auf 0.5 Mikrometereinheiten liegt das Minimum bei  $11 \mu$  auf 8.5 Mikrometereinheiten.

**Abb. 3:** Morphologische Wirkungen der Hz auf angrenzende Zellketten und Tr-Bau in schematischer Darstellung. **a** Frühstufe junger Hz in gleichförmiger Kette; infolge der nur einseitigen Beanspruchung ist die Produktionsleistung der terminalen Hz größer, was sich in entsprechender Vergrößerung des Kettenabschnitts im Vergleich mit dem auf der anderen Seite der jungen Hz andeutet. **b** Teilungsbeschleunigung beiderseits junger Hz im Gegensatz zu Zellschwellungen an reifen Hz; Tr-Endverjüngung.—**c** Vorwiegend einseitige Teilungsbeschleunigung (unter gleichzeitigem Stoffverluste?) an der nach dem Tr-Ende hin liegenden Seite einer jungen Hz.—**d** Frühstufe einer jungen Hz; die Einseitigkeit der Teilungsbeschleunigung könnte für relativ geringere membranbildende Leistung der terminalen Hz sprechen (vgl. hierzu auch **g, h** und **i**, während **j** ein sehr frühes Stadium terminaler Hz darstellt).—**e** Fast reife Hz verursacht beiderseits kräftige Zellvergrößerungen.—**f** Um die mittlere, größte Hz fast symmetrisches Tr; bei den jüngsten, am weitesten außen liegenden reifen Hz ist (nach dem Zentrum gerichtete) Zellschwellung am deutlichsten.—**g-i** Terminalen Hz wirken oft mehr teilungsfördernd als vergrößernd auf die Nachbarzellen (vgl. **d**).—**j** Ausgesprochene Zellvergrößerungen neben terminalen Hz pflegen nur bei Früh und Jugendstadien solcher aufzutreten und dann, wie aus dem Verhalten junger interkalarer Hz zu schließen ist, eher auf die zur Bildung dieser Hz führende örtliche Stoffzufuhr als auf Leistung noch sehr junger Hz selbst zurückzugehen.—**k, l** Kurz-Tr mit sekundär terminaler Hz sind sehr häufig und zeigen regelmäßig Schwellung der Nachbarzellen. Selbst wenn solche Kurz-Tr nur durch die Präparation des Materials entstünden, weisen ihre Häufigkeit und ihre Formen doch eindeutig auf die Formbeeinflussung der Nachbarzellen und auf einseitig stärkere Bindung der Hz hin.—**m, r** Größere Hz wirken mehr zellvergrößernd, kleinere mehr teilungsbeschleunigend auf ihre Nachbarn.—**n** Hz-Paare wirken wie große Hz.—**o** Nicht selten erweckt die Verteilung von Zellschwellungen und jeweils gleichartigen Teilungszuständen den Eindruck, als ob das ganze Tr einseitig (oder zweiseitig, vgl. **f**) polarisiert sei. Dabei fällt häufig die Bildung gleichartiger Zellgruppen innerhalb der Kette oder Tr, vgl. **p, q**, in die Augen.—**r** siehe **m**.— Die regelmäßige Verjüngung der Tr-Enden, falls diese nicht eine terminale Hz

führen, weist gleichfalls auf die hohe ernährungsphysiologische Bedeutung der Hz hin (b, c, e, f, k, l, o, p, und dagegen a, d, g, h und j).—Für die schematische Darstellung werden die folgenden Zeichen benutzt:

|                       |                    |         |
|-----------------------|--------------------|---------|
| reife Hz              | junge Hz           | Tr-Ende |
| reife Hz mit Vakuolen | prospektive Hz     |         |
| reife terminale Hz    | junge terminale Hz |         |

**Abb. 4:** (vgl. S. 62 und Tab. 2) Häufigkeitsverteilung der Zellanzahlen beiderseits junger Hz.

**Abb. 5:** a—Häufigkeitsverteilung der an eine junge Hz grenzenden Zellanzahlklassen.—b: Durch schnittliche Abweichungen der Zellanzahlen beiderseits junger Heterozysten.

**Abb. 6:** Normale Entwicklung der wichtigsten symmetrischen Typen von Zellketten bei *Anabaena azollae imbricatae* in schematischer Darstellung. Die prospektiven Hz (bei geradzahligen Ketten nur eine der beiden symmetrisch liegenden) sind durch kleine Kreise gekennzeichnet.—Von der 6-Kette führen normale symmetrische Entwicklungen zu 8-, 10- und 12-Ketten, von der 8-Kette zu 10- und 12- und ausnahmsweise zu 16-Ketten.

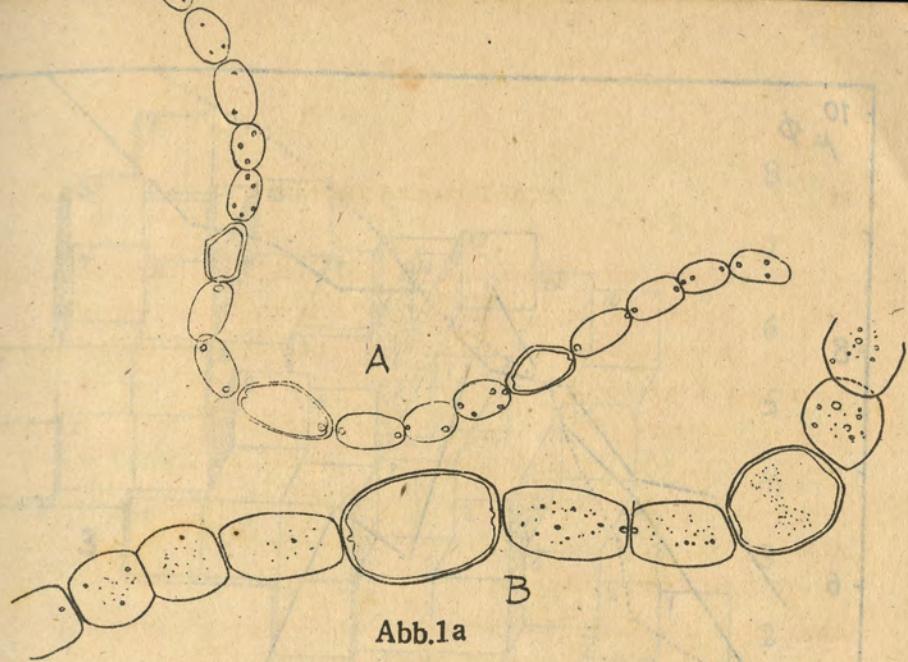


Abb. 1a

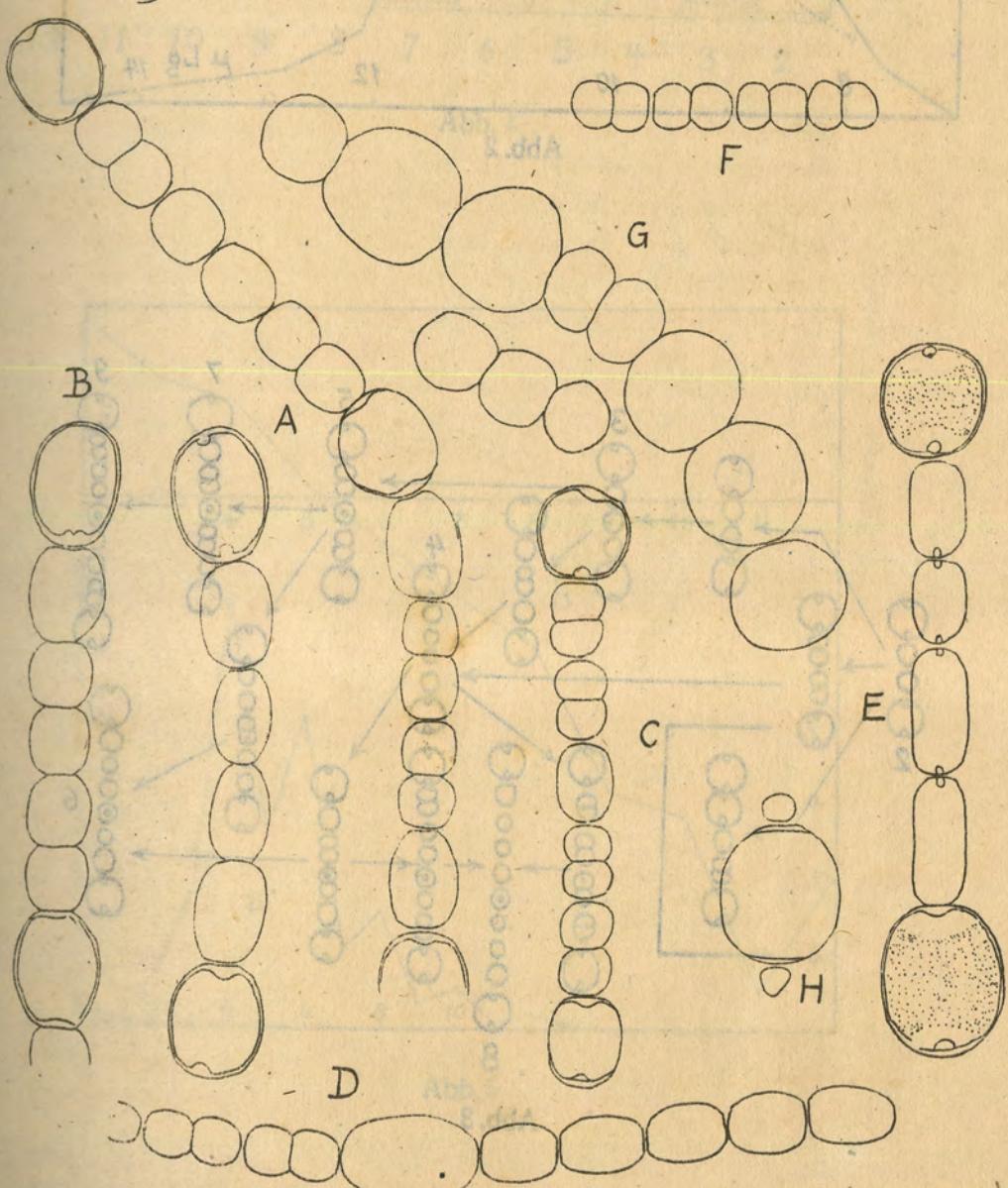


Abb. 1b

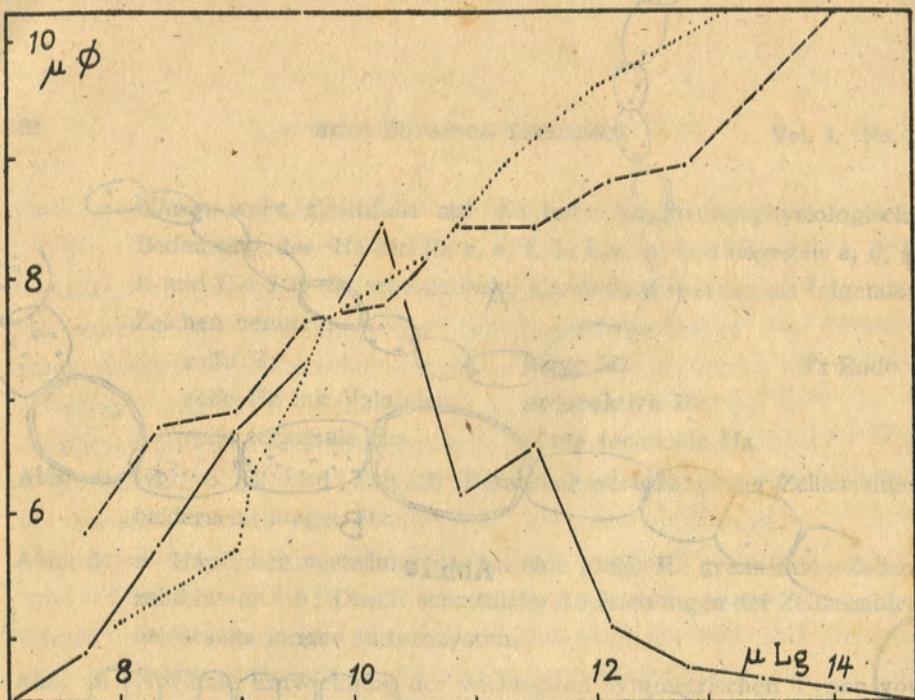


Abb. 2

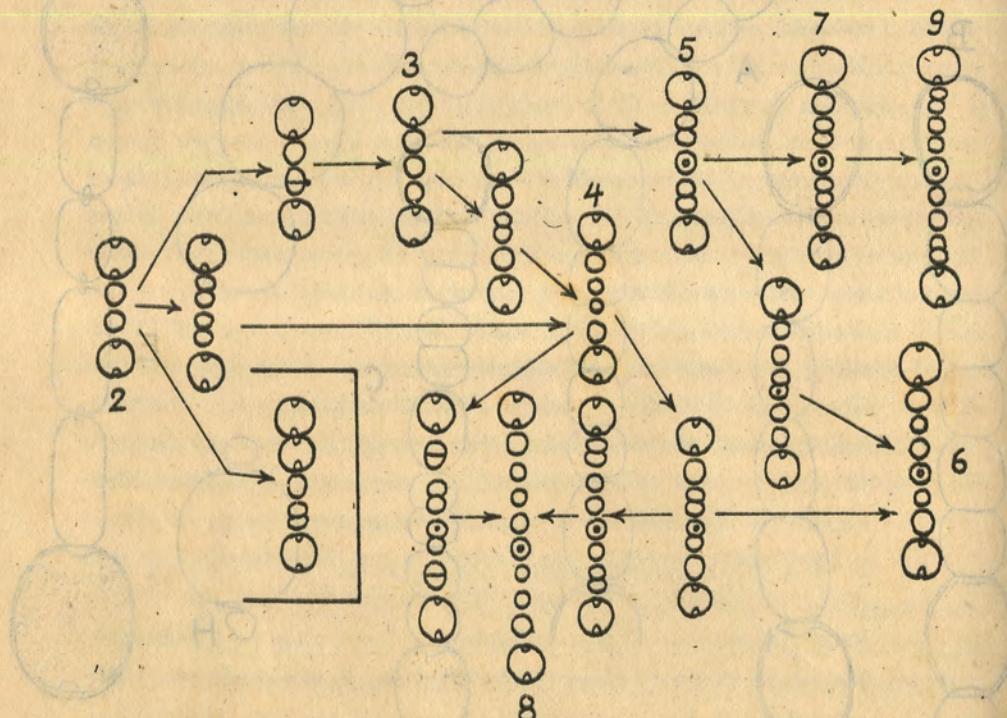


Abb. 3

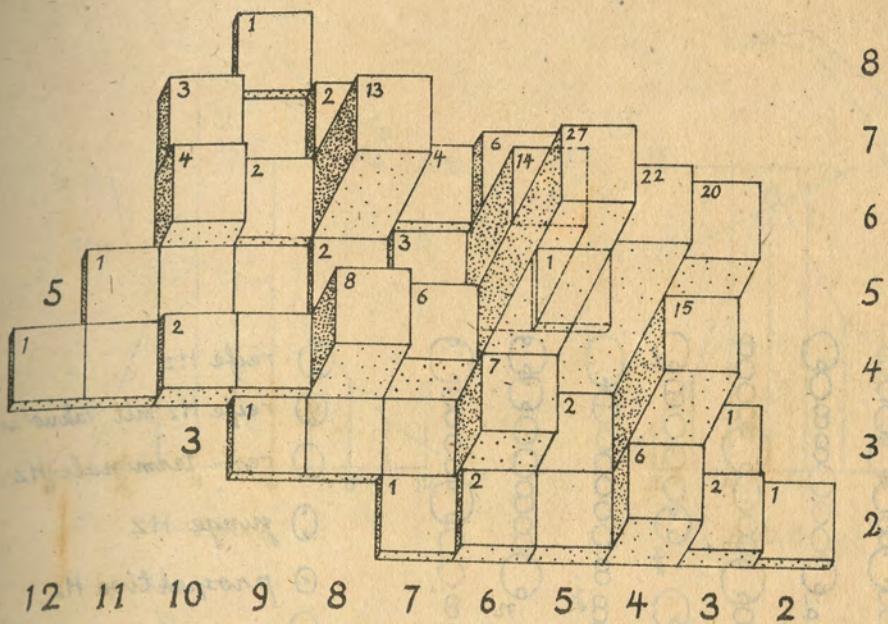


Abb. 4

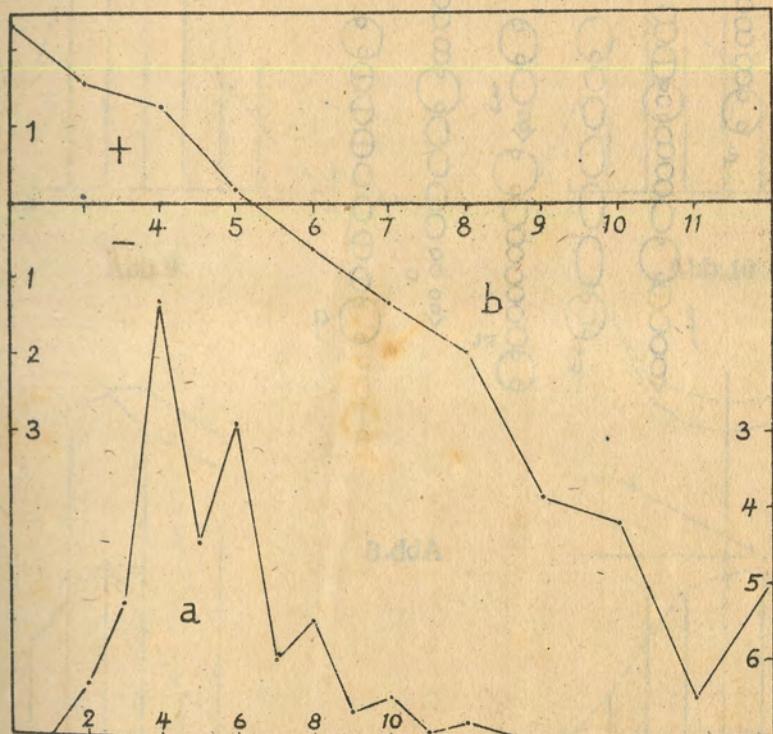


Abb. 5

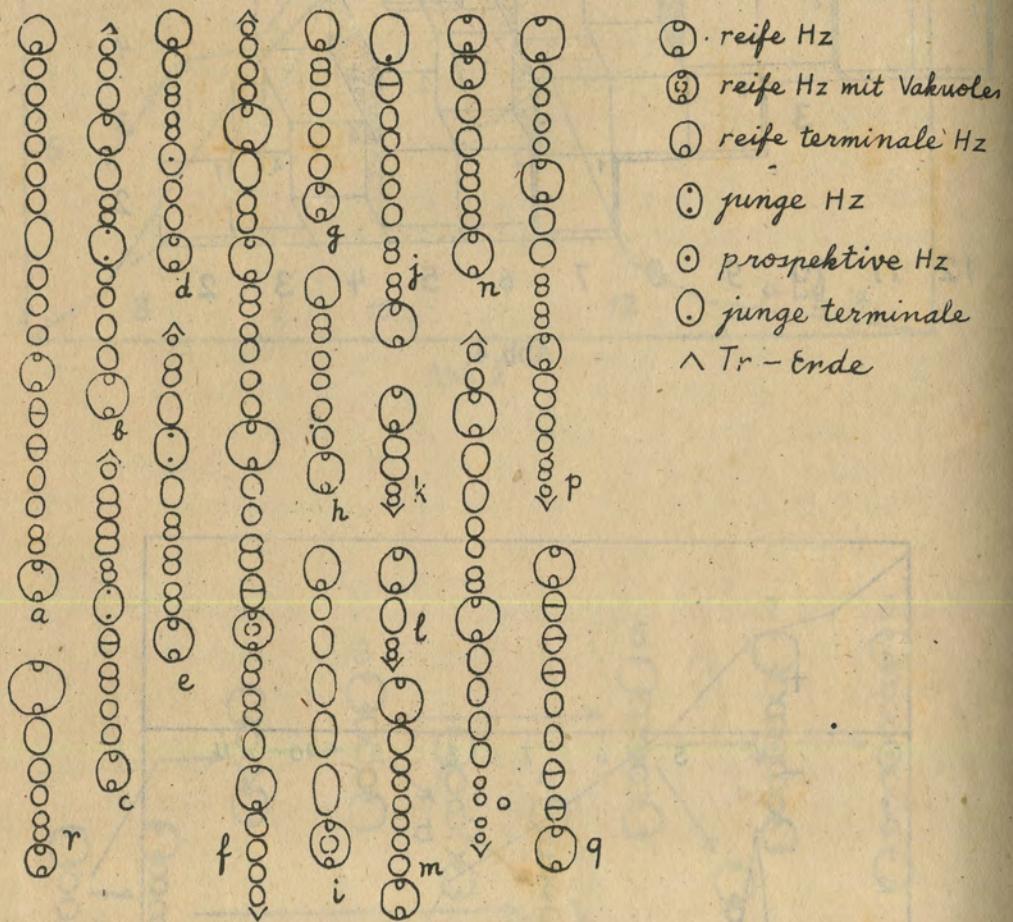


Abb. 6

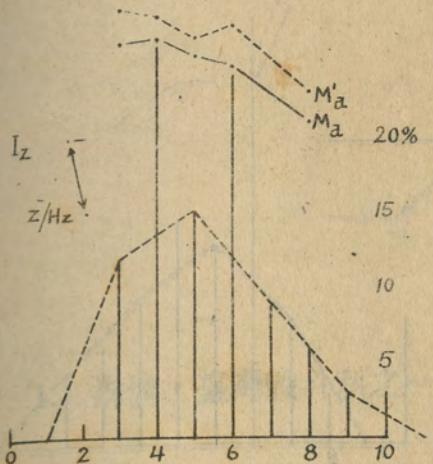


Abb. 7

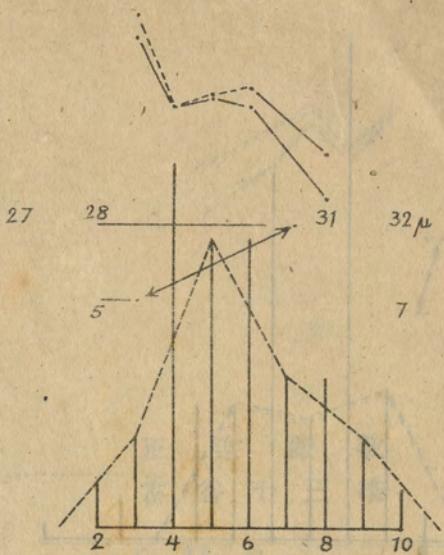


Abb. 8

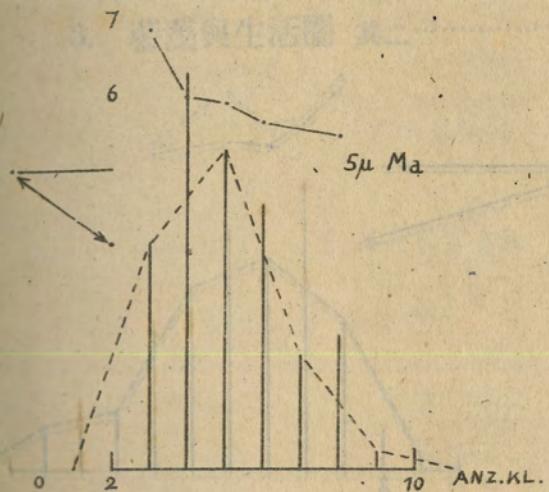


Abb. 9

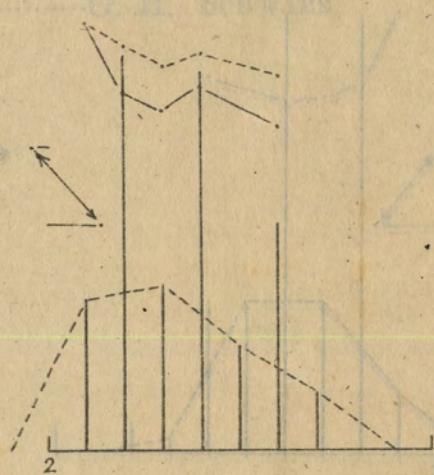


Abb. 10

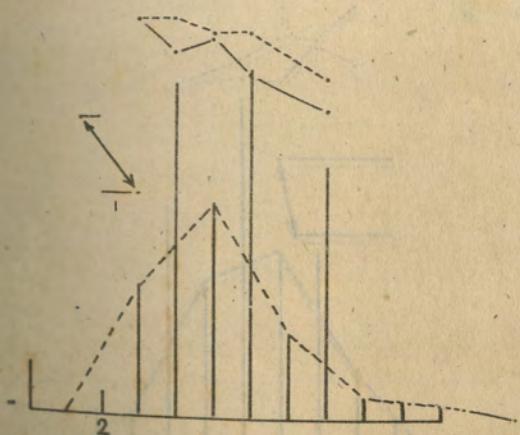


Abb. 11

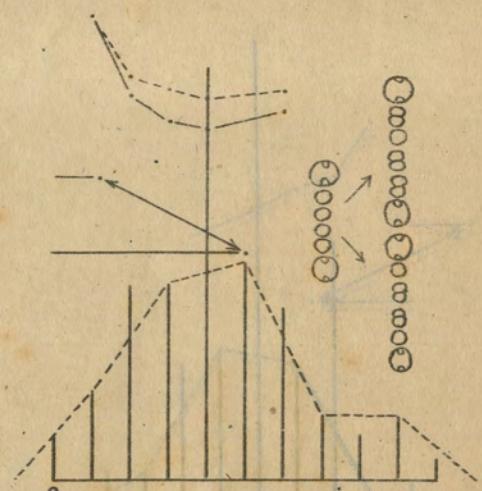


Abb. 12

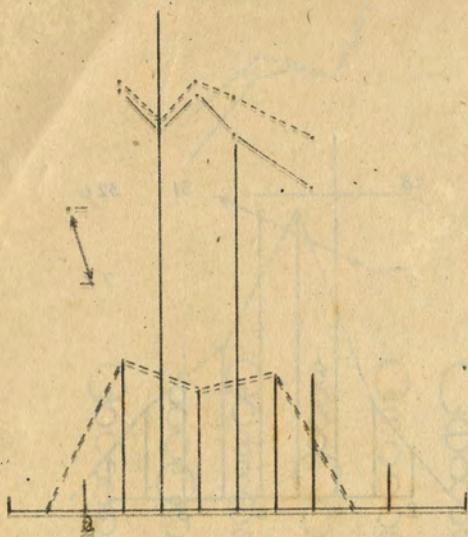


Abb. 13

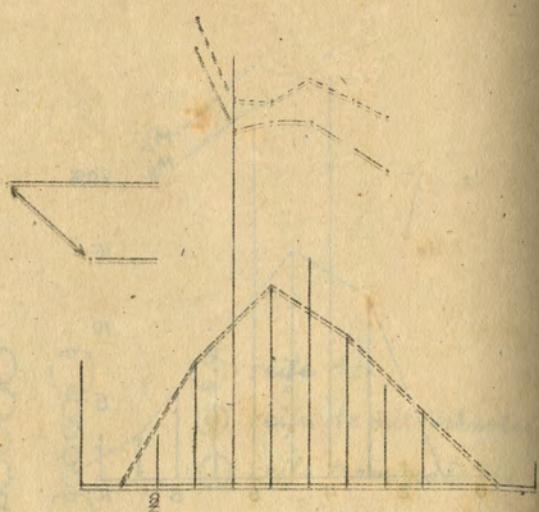


Abb. 14

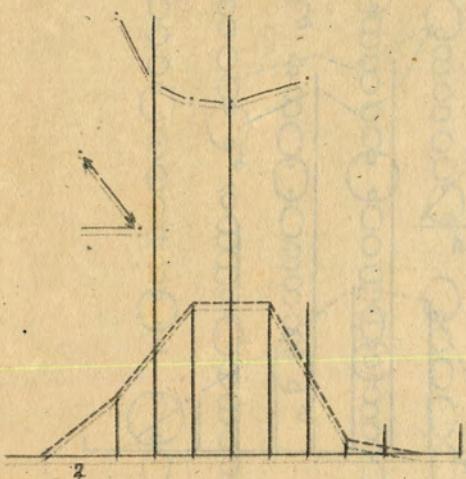


Abb. 15

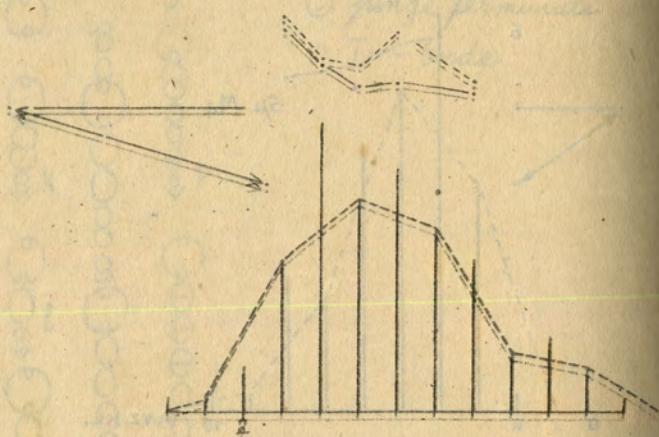


Abb. 16

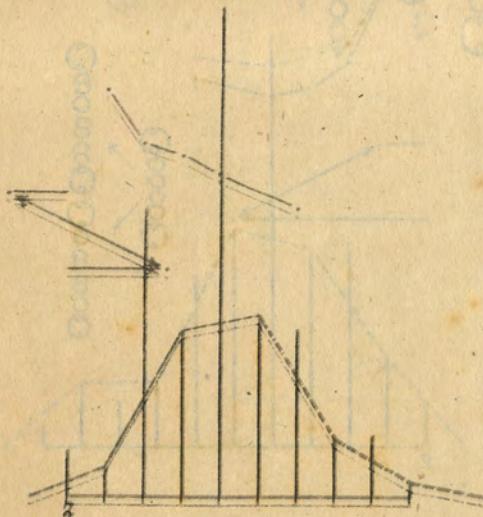


Abb. 17

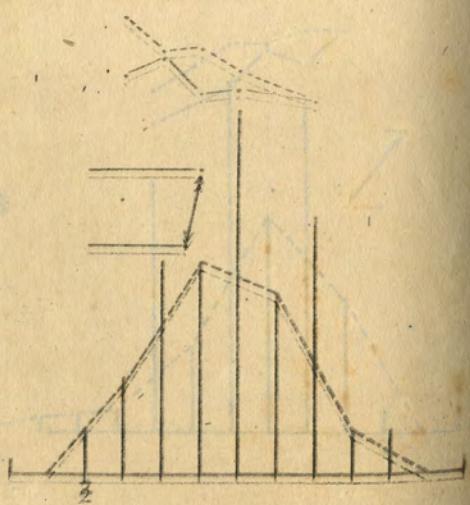


Abb. 18