

Aus dem Institut für Mikrobiologie und experimentelle Therapie, Jena, der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin und dem Zoologischen Institut der Universität Leipzig, Abt. für Trink-, Brauch- und Abwasserbiologie

**Massenvorkommen von
Synechococcus plancticus nov. spec., einer solitären,
planktischen Cyanophycee, in einem Abwasserteich**

Beitrag zur Kenntnis der sogenannten „ μ -Algen“

Von

G. DREWS*, H. PRAUSER und D. UHLMANN

Mit 8 Textabbildungen

(Eingegangen am 8. Dezember 1960)

Im Plankton mancher Gewässer ist zu bestimmten Jahreszeiten eine auffällige Entwicklung sehr kleiner, chlorophyllhaltiger Organismen zu beobachten, die man aus praktischen Gründen zur Gruppe der μ -Algen zusammenfaßt (RODHE 1955). Vor allem unter den kleinsten dieser Formen, die von manchen Autoren z.T. auch als Ultra-Protococcales, Ultra-plankter oder small forms bezeichnet werden, gibt es solche, die wegen ihrer geringen morphologischen Differenzierung nicht oder nur unsicher einzuordnen sind. Dies ist um so bedauerlicher, als sie besonders im Plankton nährstoffreicher Gewässer quantitativ eine große Rolle spielen können. Offenbar sind sie auch weltweit verbreitet.

Auf Grund des mikroskopischen Bildes kann man häufig nicht entscheiden, ob diese Organismen zu den Bakterien, Cyanophyceen, Chlorophyceen oder Xanthophyceen gehören. Auch bei bester Optik erscheinen die Zellen wegen ihrer Kleinheit und unter Umständen relativen Pigmentarmut häufig fast farblos. PRINGSHEIM (1949) weist auf die Schwierigkeit der Zuordnung von Organismen dieser Größenordnung zu bestimmten systematischen Gruppen hin. Wirklich augenfällig werden solche Formen erst dann, wenn bei einer intensiven Vegetationsfärbung größere bzw. bekannte chlorophyllführende Organismen nur in relativ kleinen Mengen mikroskopisch nachgewiesen werden können. Das bedeutet, daß besonders bei geringeren Abundanzwerten diese Formen nicht als autotrophe Komponenten erkannt, sondern zu den Bakterien gerechnet werden. Mit der gebräuchlichen Plattenkultur sind sie aber verständlicherweise auch nicht als solche nachweisbar, weil sie auf den üblichen Nährböden nicht anwachsen (VINBERG u. SIVKO 1952).

* Jetzige Anschrift: Freiburg i. Br., Schänzlestr. 9

Es gelang jedoch für die vorliegende Untersuchung, die Anreicherungskultur mit Wasser vom natürlichen Standort so zu lenken, daß praktisch reines Material vorlag. Damit war die Voraussetzung geschaffen, um mit Hilfe von Pigmentanalysen und Substrukturforschung die lichtmikroskopischen und ökologischen Daten zu ergänzen, die allein die Frage der taxonomischen Zuordnung nicht zu klären vermochten¹.

Cytologie

Der Organismus ist ein kleines, ovoides bis stäbchenförmiges Gebilde mit abgerundeten Enden, einem Durchmesser von $0,9-1,1 \mu$ und einer Länge von $1,5-3 \mu$ (Abb. 1). Die Individuen bilden keine Kolonien und schweben als Einzelstäbchen frei im Wasser. Geißeln werden nicht ausgebildet. Eine Bewegung war nicht zu beobachten. Das aus einer Suspension gewonnene Sediment zeigt schleimige Konsistenz.

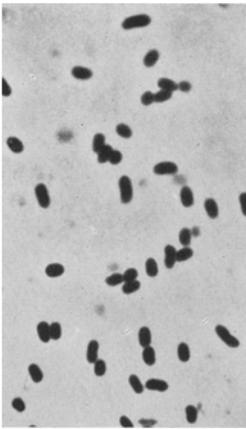


Abb. 1. *Synechococcus plancticus*. Phakoaufnahme der lebenden Zelle. 1500: 1. Die Zellen wurden auf einen Agarfilm präpariert und liegen daher zum Teil zusammen

Bei mikroskopischer Betrachtung im Hellfeld erscheinen die Zellen homogen. Gasblasen sind nicht zu erkennen. Wenn man die Keime auf Gelatine mit erhöhtem Brechungsindex (1,38) präpariert (MÜLLER 1956) und im Phasenkontrastmikroskop betrachtet, so erkennt man einzelne, dunkel erscheinende Granula. Nur ein Teil von diesen färbt sich mit Toluidinblau metachromatisch. Die Färbbarkeit der meisten, vor allem der zentral liegenden Granula nach Säurehydrolyse mit basischen Farbstoffen weist darauf hin, daß nur vereinzelt metachromatische, polyphosphathaltige Granula ausgebildet werden. Die übrigen Granula, meist 1-2, vereinzelt auch 3, zentral gelegen, enthalten wahr-

scheinlich Nucleinsäuren. Färbt man die Zellen nach Osmiumfixierung mit Azur I (0,25%ig, wäßrig mit Zusatz von 0,2% Thionylchlorid) oder Giemsa, so erscheint die gesamte Zelle gleichmäßig kräftig blau bis blauviolett. Eine nach der Fixierung durchgeführte Säurehydrolyse (3 min, n/1 HCl, 60°C) bewirkt, daß das Cytoplasma sich nicht oder kaum noch färbt, dagegen die genannten granulären Bezirke blau tingiert werden. Das regelmäßige Auftreten dieser Gebilde läßt vermuten, daß sie Teile des Kernäquivalentes sind. Sie konnten auch bei einer fädigen Cyanophyceen nachgewiesen werden (Abb. 4).

¹ Bisher wurde angenommen (UHLMANN 1959), daß der Organismus in die Gattung *Nannochloris* Naumann gehört.

Für die elektronenmikroskopische Untersuchung wurde das Material in gepufferter (Veronal-Acetat-Puffer 0,014 mol, pH 7,0), 0,5%iger Kaliumpermanganatlösung unter Zusatz von 0,05% $MgCl_2$ und 0,01% $CaCl_2$ oder in gepufferter, 1%iger Osmiumtetroxydlösung fixiert. Die Pufferung erfolgte mit Kaliumbichromat- oder Veronal-Acetat-Puffer. Nach dem Entwässern wurde in Metacrylat (Butyl: Methyl-Metacrylsäureester = 8 + 2) eingebettet. Die Schnitte wurden mit den Ultramikrotomen nach NIKLOWITZ bzw. nach SJÖSTRAND geschnitten und in dem elektrostatischen Elektronenmikroskop der Firma C. Zeiss, Jena betrachtet.

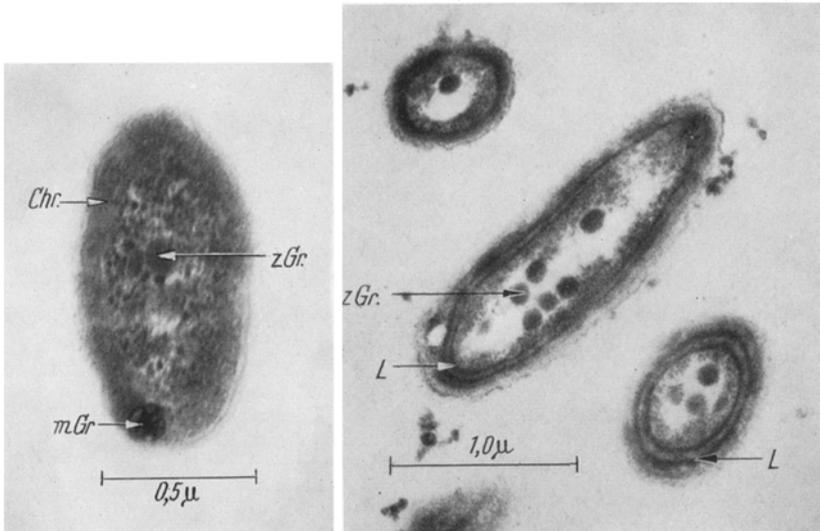


Abb. 2

Abb. 3

Abb. 2. *Synechococcus plancticus*. Fixierung mit OsO_4 . Ultradünnschnitt. Originalaufnahme, wie auch bei den folgenden Abbildungen, 11000:1; nachvergrößert. *mGr* metachromatisches Granulum, *zGr* Granulum im Centroplasma, *Chr* Chromatoplasma mit lamelliger Schichtung

Abb. 3. *Synechococcus plancticus*. Fixierung mit $KMnO_4$. *L* Lamellen im Chromatoplasma, *zGr* siehe Abb. 2

Im Elektronenmikroskop ist kein Zellkern, der eine Kernmembran enthält, zu erkennen. Die zentralen Partien erscheinen aufgelockert, ähnlich wie wir es auch bei den Bakterien beobachten können (Abb. 2) oder nach $KMnO_4$ -Fixierung weitgehend herausgelöst (Abb. 3 und 5 b). Im Bereich des Kernäquivalentes liegen die auch nach Säurehydrolyse kräftig mit basischen Farbstoffen färbbaren granulären Gebilde, die sich submikroskopisch durch das Fehlen eines starken Kontrastes und einer Grenzschicht oder Membran charakterisieren lassen (Abb. 3).

Zwischen Kernäquivalent und Zellwand sieht man häufig 2, vereinzelt auch 3 kontrastreiche Linien, die konzentrisch das Zellinnere umgeben (Abb. 3 und 5 a). In hochaufgelösten Schnitten erkennt man, daß sie aus kontrastreichen Doppellinien bestehen, die einen Abstand von 10 μ haben (Abb. 5 b). In Osmium-fixierten Einbettungen erscheint das

periphere Cytoplasma geschichtet (Abb. 2). Vergleicht man eine größere Anzahl von Längs-, Quer- und Tangentialschnitten, so ergibt sich eine kugelschalenförmige Anordnung lamelliger Gebilde. Eine ähnliche Strukturierung ist von VATTER u. Mitarb. (1959) bei *Rhodomicrobium vannielii*

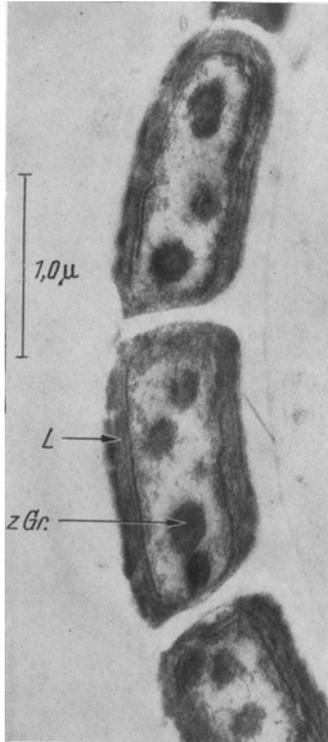


Abb. 4

Abb. 4. *Phormidium spec.* Fixierung mit KMnO_4 . Abkürzungen siehe Abb. 2 und 3

Abb. 5. *Synechococcus plancticus*. S Zellwand, Z Schleimhülle, siehe Abb. 3

beobachtet worden. Die Zellen der in Abb. 4 wiedergegebenen fädigen Blaualge stimmen in ihrem Aufbau weitgehend mit dem hier zu beschreibenden Organismus überein.

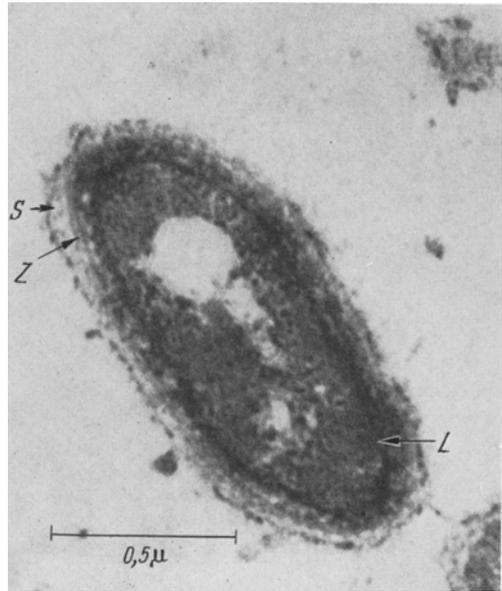


Abb. 5 a

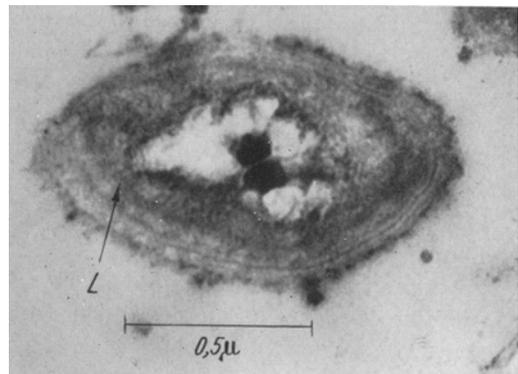


Abb. 5 b

Wenn man durch Ultraschall die Zellen zerstört und nach Zentrifugation bei 6000 U die ganzen Zellen abtrennt, so kann man in der Ultrazentrifuge aus dem Überstehenden ein grün gefärbtes Sediment erhalten

(50000 \times g), das die Pigmente enthält. In Ultradünnschnitten durch dieses Sediment sieht man lamellenförmige Gebilde, die sich damit als Träger des Chlorophylls erweisen.

Im Schnitt ist auch deutlich eine Schleimhülle zu erkennen, die sich meistens beim Schrumpfen des Objektes von diesem abhebt (Abb. 5 und 6).

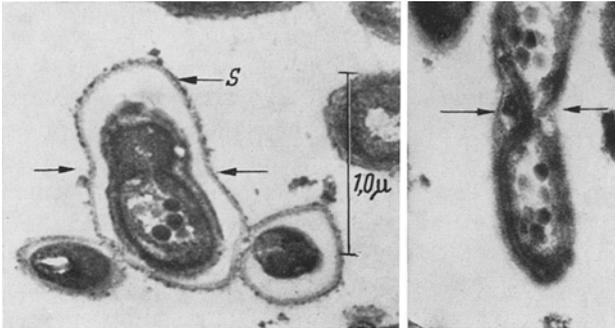


Abb. 6. *Synechococcus plancticus*. Beginnende Zellteilung (\rightarrow). Die Schleimhülle (S) ist abgehoben

Die Zellwand ist doppelschichtig (Abb. 7). Die Vermehrung der Zelle beginnt mit einer Einschnürung in der Teilungsebene (Abb. 6).

Die elektronenmikroskopischen Untersuchungen der letzten Jahre haben gezeigt, daß auch bei Bakterien und Cyanophyceen das Chlorophyll an Strukturen gebunden ist (NIKLOWITZ u. DREWS 1956/57; VATTER u. WOLFE 1958; HICKMAN u. FRENKEL 1959; DREWS 1960). Diese sind im einzelnen recht verschieden gestaltet, lassen sich aber auf zwei Grundtypen zurückführen. Das eine Bauprinzip ist z. B. bei *Rhodospirillum rubrum* und *Chromatium* verwirklicht. Bei diesen Organismen sind die Assimilationspigmente in kleinen bläschenförmigen Gebilden, die in großer Zahl in der Zelle enthalten sind, lokalisiert. Das andere Bauprinzip treffen wir bei den Cyanophyceen, aber auch bei *Rhodospirillum molischianum*. Man findet hier Lamellen, die zumeist in bestimmter Anzahl parallel verlaufend zu Aggregaten vereinigt sind. Die Lamellen zeigen mannigfaltige, von der Art und dem Alter der Kultur abhängige Anordnungen. Sie enden frei im Cytoplasma und sind nicht in Chloroplasten

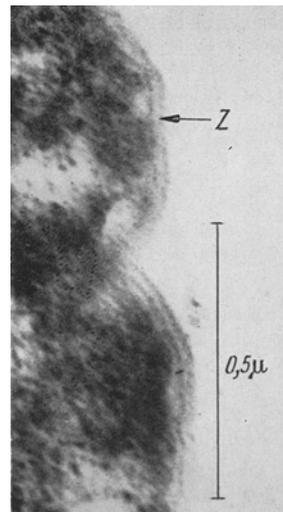


Abb. 7. *Synechococcus plancticus*. Zellwand (Z)

zusammengefaßt. Dem zuletzt genannten Typ kann man auch die bei dem hier beschriebenen Organismus beobachteten Strukturen zuordnen.

Cytologisch ergibt sich also aus den genannten Befunden, daß der vorliegende Organismus keinesfalls eine Grünalge ist, da sowohl ein selbständiger Chloroplast als auch ein echter Zellkern fehlen. Eine Differenzierung zwischen Bakterien und Cyanophyceen läßt sich aus den cytologischen Daten jedoch nicht ableiten.

Pigmente

Die Farbe einer Suspension des grünen Mikroorganismus ist trotz eines leichten Blaustiches am ehesten mit der einer Kultur einzelliger Grünalgen vergleichbar. Der Blaustich kann fehlen, ohne daß ein wesentlicher Unterschied in der arten- und mengenmäßigen Zusammensetzung der Population zu bemerken ist. Demnach ist die Farbe in gewissen Grenzen von den Entwicklungsbedingungen abhängig. Sie gestattet in jedem Falle eine klare Unterscheidung von den farblosen Bakterien, deren Anteil in der Rohkultur sehr klein war. Außerdem ließen sich nur ganz vereinzelte Chlorellen feststellen. Die Zellen des kleinen Einzelllers zeigen im Lumineszenzmikroskop rote Primärfluoreszenz.

Die Suspension wird zentrifugiert, das Sediment auf seine Organismenzusammensetzung mikroskopisch geprüft und im Mörser mit Sand zerrieben. Der Acetonextrakt erhält einen kleinen Pentanzusatz. Die lipophilen Pigmente werden mit Wasser in das Pentan getrieben. Nach dessen Abtrennung und Trocknung mit wasserfreiem Natriumsulfat wird die Pigmentlösung auf die Startpunkte von 1 cm breiten und 12 cm langen Filterpapierstreifen (Schl. u. Sch. 2043 b) gebracht. Entwickelt wird mit Pentan-Aceton-Gemischen in verschlossenen Reagenzgläsern. Bei einem Verhältnis von 10:1 treten in der Reihenfolge zunehmender R_f -Werte folgende Flecke auf:

1. an der Basis ein kleiner blaß-orangefarbener Fleck;
2. ein citronengelber Fleck;
3. ein blaugrüner Fleck, der im UV-Licht rot fluoresciert;
4. ein eingebuchteter gelb-orangefarbener Fleck und
5. an der Front ein gelber Fleck.

Das verwendete Pentan-Aceton-Gemisch gestattet die Trennung von Chlorophyll a und b. Da hier nur ein Fleck vorhanden ist und Chlorophyll b nur gemeinsam mit Chlorophyll a auftritt, zeigt bereits das Übersichtschromatogramm das Fehlen von Chlorophyll b. Es konnte auch im UV-Licht keine Spur eines zweiten grünen Pigmentes gesehen werden.

Die Identifizierung des grünen Pigmentes erfolgte durch sein Absorptionsspektrum.

Zur Vortrennung wurde die Pentanlösung der Pigmente mehrmals mit 92%igem Methylalkohol geschüttelt, der die hypophasischen Pigmente aufnimmt. Das grüne Pigment und das ebenfalls im Pentan verbleibende Carotin werden nach strichförmigem Auftragen auf Schl. u. Sch.-Karton 2071 mit einem Pentan-Äther-Gemisch (7:4) getrennt. Das grüne Pigment wird mit Aceton eluiert und die Absorption in den einzelnen Wellenbereichen mit Hilfe eines Spektrophotometers (C. Zeiss, Jena) gemessen.

Nachstehend sind die Absorptionsmaxima denen vom Chlorophyll a gegenübergestellt.

Chlorophyll a (MACKINNEY, 1948)	410, 430, 535, 580, 615, 663 m μ ,
untersuchtes Pigment	410, 430, 535, 580, 615, 660 m μ .

Lösungsmittel ist Aceton.

Wie der Vergleich zeigt, stimmen die Maxima überein. Auch die Kurven entsprechen einander fast vollkommen. Die Absorptionsspektren der anderen bekannten grünen Assimilationspigmente sind so abweichend, daß sie hier nicht erörtert zu werden brauchen. Das vorliegende grüne Pigment ist eindeutig Chlorophyll a.

Zur Untersuchung der gelben Pigmente reichte das Material nicht aus. Für unsere Frage spielen sie nur eine untergeordnete Rolle. Erfahrungsgemäß rühren die Flecke 2 und 4 von Phytoxanthinen her, der Fleck 5 von einem oder zwei der Carotine. Der Fleck 1 dürfte ein Zeretzungsprodukt eines Phytoxanthins sein.

Der Rückstand des Acetonextraktes zeigte in feuchtem Zustand eine schmutzig-blaugrüne Farbe. Nach mehrmaligem Waschen mit Aceton und Trocknen im Vakuum wurde der Rückstand mit dest. Wasser extrahiert und der Extrakt zentrifugiert. Die überstehende, rein blaue Lösung hatte ein Absorptionsmaximum bei 613 m μ und ein zweites bei 415 m μ . Nach einem Minimum bei 400 m μ nimmt die Extinktion im UV-Licht wieder zu.

Das Maximum bei 613 m μ stimmt ganz gut mit dem des C-Phycocyanin überein, das für eine reine wäßrige Lösung mit 620 m μ und für eine nicht ganz reine mit 612 m μ angegeben wird (HAXO; O'HEOCHÉ u. NORRIS 1955). Die Herkunft des zweiten Maximums und die starke Absorption im UV-Licht bleiben ungeklärt. Es muß beachtet werden, daß wegen der geringen Materialmenge in unserem Falle die Extraktion des Phycocyanin erst nach der Extraktion der lipophilen Pigmente vorgenommen werden konnte.

Nach den üblichen morphologischen Untersuchungen müssen für den Organismus folgende Gruppen in Betracht gezogen werden: Die Unterordnung *Rhodobacteriineae* innerhalb der Bakterienordnung der *Pseudomonadales*, die *Cyanophyceae*, die *Chlorophyceae* und zur Sicherheit noch die *Xanthophyceae*. Wenn auch die Zahl der im Hinblick auf ihre Pigmente untersuchten Arten für die verschiedenen großen Sippen noch relativ gering ist, so wird doch das Vorkommen bestimmter Pigmente fast allgemein als beweiskräftig für eine entsprechende Sippenzugehörigkeit angesehen.

In den *Thiorhodaceae* und den *Athiorhodaceae* wird das grüne Bakteriochlorophyll von Carotinoiden überdeckt. Die Populationen erscheinen demnach rot, violett oder bräunlich. Die Vertreter der *Chlorobacteriaceae*

enthalten ein grünes Chlorophyll-Pigment, das Bacterioviridin. Die Zellmassen sind gelbgrün gefärbt. Die *Cyanophyceae* führen neben Chlorophyll a und einigen Carotinoiden das wasserlösliche blaue C-Phycocyan, eine Reihe von Arten außerdem wechselnde Mengen des roten C-Phycocerythrins. Aus dem jeweiligen Anteil der Farbstoffe resultiert die Farbe der Organismen. In den *Chlorophyceae* kommt das Chlorophyll a stets mit dem Chlorophyll b zusammen vor. Trotz der begleitenden Carotinoide sind die Zellen fast immer rein grün gefärbt. Demgegenüber fehlt den *Xanthophyceae* das Chlorophyll b. Ein relativ großer Carotinoidanteil läßt sie meist gelbgrün erscheinen. Demnach müssen die Chlorophyceen für den hier untersuchten Organismus wegen des Fehlens von Chlorophyll b ausgeschlossen werden.

Das Absorptionsspektrum des grünen Pigments beweist die Identität mit Chlorophyll a. Dieser Befund schließt die Zugehörigkeit zu den Bakterien aus, jedoch nicht die zu den Xanthophyceen. Da es sich bei dem wasserlöslichen blauen Pigment mit größter Wahrscheinlichkeit um C-Phycocyan handelt und wasserlösliche, blaue Pigmente bei den Xanthophyceen nicht bekannt sind, darf die Zugehörigkeit zu den Cyanophyceen als sicher gelten. Die morphologischen und ökologischen Befunde stehen hierzu nicht im Widerspruch.

In diesem Zusammenhang dürfen Untersuchungen von GODNEV u. VINBERG (1951) nicht unerwähnt bleiben. Sie fanden in einem „grünen Bakterium“, das sich stoffwechselphysiologisch ganz wie eine Grünalge verhält, Chlorophyll a und b. Da jedoch der von uns untersuchte Einzeller mit dem „grünen Bakterium“ nicht identisch ist und nebeneinander zwei charakteristische Pigmente, das Chlorophyll a und das wasserlösliche Phycocyan besitzt, glauben wir, daß es an dieser Stelle nicht erforderlich ist, die Pigmentuntersuchungen am „grünen Bakterium“ und ihre Konsequenzen für die phylogenetischen Vorstellungen zu diskutieren.

Ökologie

Die untersuchte Form wurde bisher nur im Dorfteich von Gundorf bei Leipzig gefunden (UHLMANN 1959). Es handelt sich um einen 0,4 ha großen ehemaligen Fischteich, der als Behelfskläranlage für Abwässer einer Landgemeinde von etwa 1500 Einwohnern dient. Dementsprechend weist das Teichwasser einen sehr hohen Gehalt an Ammoniak (> 20 mg N/l) und Phosphat (> 1 mg P/l) auf, zumal das zufließende Abwasser zeitweise viel Jauche enthält. In diesem ausgesprochen polytrophen Gewässer ruft der Organismus besonders im Spätsommer starke Vegetationsfärbungen mit Individuendichten bis zu 300 Millionen Zellen je Milliliter Teichwasser hervor. Der Teich erscheint dann in der Aufsicht intensiv malachitgrün, die Sichttiefe beträgt höchstens 10 cm. Eine ähnlich starke Farbtintensität bei Massenaufreten dürfte nur von

wenigen Phytoplanktern erreicht werden. Die Massenentwicklung führt zeitweise zu starker O_2 -Übersättigung des Wassers (mitunter 300% der Sättigungsmenge) und beschränkt sich auf die obersten Wasserschichten. Bei windstillem Wetter ist schon in 25 cm Tiefe die Individuendichte sehr viel geringer als an der Oberfläche (Abb.8). Auch das in Abb.8 dargestellte Schichtungsbild weist darauf hin, daß es sich um einen oxybionten Organismus handelt. Das zahlenmäßige Übergewicht dieser autotrophen Form über die echten Bakterien war innerhalb der O_2 -haltigen Wasserschicht so groß, daß man die „Gesamtbakterienzahl“¹ als sehr guten Näherungswert für den Abundanzwert des grünen Organismus ansehen kann.

Zu Zeiten der Massenentfaltung spielten andere autotrophe Komponenten nach Individuen- und Artenzahlen eine oft nur sehr geringe Rolle. Zeitweise hatte man sogar den Eindruck einer Reinkultur. Eine der möglichen Ursachen hierfür wäre nach PRATT u. Mitarb. (1944) sowie LEFÈVRE u. Mitarb. (1951) in der Bildung von Hemmstoffen zu suchen. Auch in der Zeit der stärksten Vegetationsfärbung waren Hauptnährstoffe wie z. B. Phosphat, Stickstoffverbindungen und Bicarbonat noch im Überschuß vorhanden. Das gleiche dürfte für eine Reihe von organischen Wachstumsfaktoren zutreffen, die ja im häuslichen Abwasser zum Teil in beträchtlichen Mengen vorhanden sind.

Die Massenentfaltung wurde im Teich bisher in folgenden Bereichen beobachtet:

	5,4—22,7°C (Optimum bei den höheren Temperaturen)
Wassertemperatur	
pH (kolorimetrisch)	7,3 — 8,1
Säurebindungsvermögen	4,0 — 6,9 mval
Ammoniak-Stickstoff	9,5 — 28,0 mg/l
Nitrit-Stickstoff	0,000 — 0,230 mg/l
Nitrat-Stickstoff	0,00 — 0,80 mg/l
organ. Stickstoff (gelöst)	4,8 — 31,0 mg/l
Phosphat-Phosphor (anorg.)	0,900 — 2,200 mg/l

Im Verlaufe der Entwicklung des Mikroorganismus werden einerseits sehr große Mengen an Sauerstoff und Biomasse erzeugt, nach dem Absterben bzw. Absinken in lichtarme Wasserschichten jedoch andererseits große Mengen organischer Substanz an das Wasser abgegeben, die eine

¹ Formolfixierte Original-Wasserproben wurden quantitativ membranfiltriert (Filter Tb, Sartorius-Göttingen). Aus den gefärbten (Karbol-Erythrosin), gewaschenen, getrockneten Filtern wurden kleine Stückchen herausgeschnitten und durch Einbettung in Cedernholzöl (unter dem Deckglas, Dauerpräparate) durchsichtig gemacht. Direkte Auszählung unter Verwendung eines Okular-Netzmikrometers.

starke Sulfatreduktion ermöglichen, zumal Sulfat in großen Mengen vorhanden ist. Der starken Sauerstoffübersättigung in den oberen Schichten stehen dann hohe H_2S -Werte schon ab 60 cm Tiefe gegenüber (Abb. 8 und UHLMANN 1961). Spezielle Untersuchungen über die Größenordnung der Primärproduktion im Gundorfer Teich konnten bisher noch nicht durchgeführt werden.

Die Entfaltung des Mikroorganismus erreicht ihr größtes Ausmaß in den Sommermonaten. So datierte die durch ihn hervorgerufene Vegetationsfärbung beispielsweise im Jahre 1955 von Anfang Juli bis Anfang

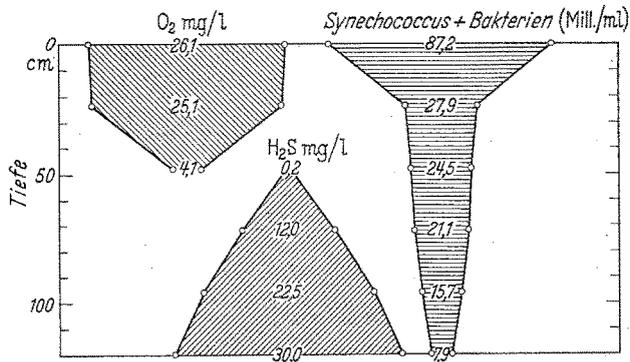


Abb. 8. Sauerstoff/Schwefelwasserstoff-Schichtung sowie „Gesamtbakterienzahl“ (= *Synechococcus* + Bakterien) im Dorfteich Gundorf an einem windstillen Sommertag (13. 7. 55; 12 Uhr)

Oktober, im Jahre 1958 von Anfang Juli bis Anfang November. Ihr Beginn wurde bisher nur bei hohen Wassertemperaturen beobachtet. Die herbstliche Abkühlung des Wassers wird jedoch über längere Zeit vertragen. Nach dem Abschmelzen der Eisdecke im Frühjahr bildet sich stets eine Vegetationsfärbung, die von anderen Formen herrührt, so zum Beispiel von *Euglena viridis*, *E. proxima*, *Chlamydomonas media* und *Chlorella*-Arten. Zu dieser Zeit ist vom Winter her noch eine starke Akkumulation von anorganischen und organischen Fäulnisstoffen festzustellen, deren Konzentration beim Einsetzen der Vegetationsfärbung durch den Mikroorganismus schon sehr viel geringer ist. Der starke Rückgang im Herbst oder Winter ist nicht allein auf niedrige Wassertemperaturen, sondern zum Teil eindeutig auf den „grazing effect“ oder auf die Bildung einer Eisdecke zurückzuführen, die vor allem nach Schneefall ein ungünstiges Lichtklima bedingt, das wiederum eine stärkere Anhäufung von organischen Fäulnisstoffen zur Folge hat. Der „grazing effect“ wird am häufigsten durch Massenentwicklung von Protomonaden (z. B. *Oicomonas termo*) bewirkt. Dies läßt sich auch im Aquarienversuch demonstrieren. Zu den Konsumenten gehört weiterhin *Daphnia*

magna, die auch im Laboratorium bei Fütterung mit dem Mikroorganismus besonders gut gedeiht.

Die Tatsache, daß der Mikroorganismus in einem Abwasserteich Massenentwicklung zeigt, ließe eigentlich erwarten, daß es sich um eine eurytope Form handelt, die auf Grund ihrer Widerstandsfähigkeit gegenüber Fäulnisgiften, zum Beispiel undissoziiertem Ammoniak, in sehr nährstoffreichen bzw. durch häusliche Abwässer verschmutzten stehenden Gewässern allgemein sehr häufig ist. Das trifft aber offensichtlich nicht zu. Jedenfalls konnte in mehr als 30 abwasserbeeinflussten Teichen der Umgebung von Leipzig, die sich größtenteils durch einen ganz ähnlichen Chemismus auszeichnen wie der Dorfteich von Gundorf, diese Form noch nicht gefunden werden. In dem sehr nährstoffreichen „Süßen See“ bei Halle tritt allerdings bisweilen ein vegetationsfärbender Organismus in Erscheinung, der möglicherweise mit der Gundorfer Form identisch ist.

Versuche, den Mikroorganismus in Reinkultur zu bringen und vor allem ein geeignetes Medium für die Kultur zu finden, blieben bisher erfolglos. Er läßt sich jedoch fast unbegrenzt in einer ziemlich reinen Rohkultur halten, wenn als Medium Gundorfer Teichwasser verwendet wird. Im vorliegenden Fall geschah dies über 10 Monate, d. h. solange größere Mengen an Material benötigt wurden.

Zu diesem Zweck wurde das Wasser filtriert (Glasfilter G4 Schott) und in den Kulturgefäßen (Jenaer Kappenflaschen 1 l) sterilisiert. Nach dem Erkalten wurde unter Einhaltung steriler Bedingungen ein gefiltertes Kohlensäure-Luft-Gemisch zwecks Lösung des ausgefällten Calciummonocarbonates und zur Sauerstoff-Anreicherung eingeblasen. Beimpft wurde mit etwa 50 ml einer Suspension, die vorher ebenfalls durch ein Glasfilter G4 Schott filtriert worden war. Die Kulturen wurden in zwei- bis dreiwöchigen Abständen erneuert und waren in den meisten Fällen fast frei von Protozoen und anderen Algen. Sie zeigten auch bei ausschließlicher künstlicher Beleuchtung (Leuchtstoffröhre BGW 40 W, „weiß“ oder „gelblich-weiß“) ein ebenso gutes Gedeihen wie bei teilweiser Tageslicht-Beleuchtung. Es wurde täglich 16 Std lang belichtet. Die Kultur erfolgte bei 18°C. Die genaue Einhaltung eines solchen Tag-Nacht-Rhythmus und einer konstanten Temperatur erwies sich als nicht unbedingt erforderlich.

Ein ähnliches ökologisches Verhalten zeigt das bereits zitierte „grüne Bakterium“ (MAYENNE 1935; VINBERG u. SIVKO 1952). Dieser Organismus ruft in Abwasserteichen bei Moskau und bei Minsk sehr starke Vegetationsfärbungen hervor. Bei gleichzeitigem quantitativem und qualitativem Rückgang der übrigen autotrophen Komponenten kommt es im Hochsommer zur Ausbildung riesiger Zellzahlen (112–525 Millionen Zellen je Milliliter); in einem Falle, nachdem durch starke Verdunstung eine „Verdichtung“ des Planktons eingetreten war, wurden sogar 11 Milliarden Zellen je Milliliter gezählt. Die Sauerstoffproduktion übertrifft mit Werten bis zu 100 mg O₂/l/Std „alle sonst bekannten Angaben der Photosynthese des Planktons von natürlichen Gewässern bei weitem“ (VINBERG u. SIVKO 1952). Auch hier gelang die Reinkultur nicht.

Dem Gundorfer Organismus ähneln hinsichtlich ihrer Ökologie auch manche Arten der Gattung *Nannochloris* Naumann. Den Großteil der Arten stellen sehr kleine coccale bis kurzstäbchenförmige Plankter, deren Massenentfaltung in extrem nährstoffreichen Gewässern starke Vegetationsfärbungen bewirken. Außer den von NAUMANN beschriebenen Süßwasserformen sind auch marine Formen bekannt (BUTCHER 1953; RYTHER 1954). Für Massenentwicklungen von *Nannochloris atomus* und einer *Stichococcus*-Art in einer durch Abwässer aus Entenfarmen eutrophierten Meeresbucht nennt RYTHER Zahlen von maximal 10 Millionen Zellen je Milliliter. Das ist ein für marine Verhältnisse sehr beachtlicher Abundanzwert.

Ebenfalls in stark gedüngtem Wasser (Versuchsbehälter) wurde von PENNINGTON (1941) eine *Chlorella*-ähnliche Form (*Diogenes rotundus*) entdeckt, die ein Pyrenoid besitzt, jedoch kein Chlorophyll b, und sich durch Zweiteilung vermehrt. Offensichtlich gibt es in der Größenordnung von etwa 0,5–3 μ eine ganze Anzahl solitärer planktischer Formen, die in polytrophen Gewässern zum Teil sehr starke gras- bis malachitgrüne Vegetationsfärbungen hervorrufen können und sich auch äußerlich und in ihrer Vermehrungsweise (Zweiteilung) ähneln, aber ganz verschiedenen Taxa angehören können. In ihrer Ökologie zeigen sie, soweit man dies bisher beurteilen kann, gewisse Ähnlichkeiten mit *Chlorella* und *Stichococcus*, sie unterscheiden sich in ihrer Lebensweise jedoch deutlich von den *Chlorobacteriales* Lauterborn.

Diskussion

Wie einleitend dargelegt wurde, ist es nicht möglich, den untersuchten grünen Organismus allein auf Grund morphologischer Befunde taxonomisch einzuordnen. Auch eine genauere cytologische Untersuchung mit dem Lichtmikroskop brachte keine eindeutigen Befunde, führte aber zu der Vermutung, daß weder ein Zellkern noch ein distinkter Chromatophor vorhanden sind. Diese Annahme konnte durch das Elektronenmikroskop bestätigt werden.

Damit war erwiesen, daß der Organismus nicht zu den Algen, sondern nur zu den Bakterien oder den Cyanophyceen gehören kann (GEITLER 1960). Selbst so tief stehende Algen wie *Nannochloris*, über deren Berechtigung als selbständige Gattung innerhalb der Chlorophyceen wir hier nicht diskutieren wollen, besitzen einen distinkten Chromatophor (NAUMANN 1931; DROOP 1955).

Wenn man außer diesen cytologischen Befunden noch die Farbe der Suspension berücksichtigt, könnte man eine chroococcale Blaualge oder gegebenenfalls auch eine Chlorobacteriacee vermuten (SKUJA 1960)¹. Der Nachweis von Chlorophyll a und Phycocyan neben verschiedenen

¹ Persönliche Mitteilung.

Carotinoiden erlaubt jedoch, die zuletzt genannte Gruppe auszuschließen und den Organismus zu den Cyanophyceen zu stellen.

Nach dem Geitlerschen Schlüssel (1932) gehört diese einzellige Cyanophyce zu den *Chroococcales*. Es gibt eine Reihe von Gattungen, in denen Arten dieser Form und Größe beschrieben wurden; aber in fast allen Fällen sind wenige bis viele Einzelzellen von einer gemeinsamen, deutlich begrenzten oder zerfließenden Gallerte eingeschlossen. Für unseren Organismus kann nur die Gattung *Synechococcus* herangezogen werden, deren Vertreter als unverbundene Einzelzellen vorkommen. Die geringe Größe des untersuchten Organismus und seine ausgeprägt planktische Lebensweise erfordern jedoch die Aufstellung einer neuen Art.

Synechococcus plancticus, n. sp.

Zellen einzeln, 0,9—1,1 μ breit, 1,5—3,0 μ lang, stäbchenförmig bis ovoid, unbeweglich. Vermehrung durch Querteilung. Einzeln im Wasser schwebend. Farbe der Suspension grasgrün bis blaugrün. Schleimhülle nicht sichtbar, Sediment jedoch von schleimiger Konsistenz. Massenvorkommen bedingt hohe Sauerstoffwerte in einem Abwasserteich. Wiederholt im Hochsommer bei Gundorf in der Nähe von Leipzig.

Synechococcus plancticus, n. sp.

Cellulae solitariae, latitudine 0,9—1,1 μ , longitudine 1,5—3,0 μ , bacilloformae-ovatae, immotae. Ad propagandum per transversum dividuntur. Sciuges aliae ab aliis in aqua pendent. Suspensio colore herbaceo-glaucis. Mucus non cernitur, sed sedimentum mucosum. Immenso numero cum abundantia oxygenii in stagno quodam. Per complures annos aestate adulta ad vicum Gundorf prope Leipzig.

Es mag verwundern, daß eine Art, die eine charakteristische Vegetationsfärbung bilden kann, noch nicht taxonomisch erfaßt ist. Eine Ursache ist wohl die geringe Größe und die damit verbundene Schwierigkeit, mit den für Planktonorganismen üblichen Methoden diese Form zu bestimmen. Es kommt hinzu, daß Organismen der genannten Größe und Form recht verschiedenen Klassen angehören können, und zudem eine Abgrenzung der Taxa gegeneinander bisher oft nicht eindeutig möglich war. In diesem Zusammenhang sei nur auf die ausführliche Diskussion über grüne bakterienähnliche Formen durch PRINGSHEIM (1949) verwiesen. Verschiedene Beobachtungen, so von SACHAROV u. KONSTANTINOVA (1929) sowie VINBERG u. SIVKO (1952) bringen Befunde, die mit einer Reihe von Eigenschaften unseres Organismus gut übereinstimmen, sich aber in entscheidenden Punkten, so der Pigmentzusammensetzung, von diesem grundlegend unterscheiden.

Es scheint wenig sinnvoll, an dieser Stelle eine vergleichende Betrachtung über die Zugehörigkeit der verschiedenen in der Literatur beschriebenen „bakterienähnlichen“ grünen Organismen vorzunehmen. Die Arbeit hat gezeigt, daß nur Pigmentanalyse, genaue cytologische Untersuchungen sowie die ökologischen Befunde zusammengenommen ein klares Bild schaffen können.

Summary

A description is given of the new species *Synechococcus plancticus*. These unicellular blue-green algae vary from a rod-like to ovoidal shape with a diameter of nearly 1μ and a length of $1,5$ to 3μ . The cells are individually suspended in the water. Mass production of this organism was noticed in a sewage oxidation pond from July to October causing a supersaturation of oxygen.

Examination in the electron microscope reveals that the cells have no true nucleus and no true chloroplast. The assimilation pigments are localized in lamellae near the periphery of the cell. The existence of chlorophyll a and phycoerythrin and the absence of chlorophyll b could be proved.

Der letztgenannte Verfasser dankt Herrn Dipl.-Biol. HEDLICH für Mithilfe beim Ansetzen der Kulturen, den Herren Prof. Dr. KUSNETZOV, Doz. Dr. HANDKE, Dipl.-Biol. SATTLER und Dipl.-Chem. TANNEBERGER für wertvolle Hinweise.

Literatur

- BUTCHER, R. W.: Contribution to our knowledge of the smaller marine algae. J. Mar. biol. Ass. U. K. **31**, 181 (1952/53).
- DREWS, G.: Untersuchungen zur Substruktur der „Chromatophoren“ von *Rhodospirillum rubrum* und *Rhodospirillum molischianum*. Arch. Mikrobiol. **36**, 99 (1960).
- DROOP, M. R.: Some new supra-littoral protista. J. Mar. biol. Ass. U. K. **34**, 233 (1955).
- GEITLER, L.: Cyanophyceae in „Rabenhorst's Kryptogamenflora“, Band 14. Leipzig 1932.
- GEITLER, L.: Schizophyceen im Handb. d. Pflanzenanatomie (begründet von LINSBAUER) Band VI, 1 (1960).
- GODNEV, T. I., u. G. G. VINBERG: Über die Pigmente der „grünen Bakterien“. Dokl. Akad. Nauk. SSSR. **76**, 909 (1951).
- HAXO, F., C. O'HEOCHE and P. NORRIS: Comparative studies of chromatographically separated phycoerythrins and phycoerythrin. Arch. Biochem. **54**, 162 (1955).
- HICKMAN, D. D., and A. W. FRENKEL: Structure and photochemical activity of chlorophyll-containing particles from *Rhodospirillum rubrum*. J. biophys. biochem. Cytol. **6**, 277 (1959).
- LEFÈVRE, M., M. NISBET et E. JAKOB: Action des substances excrétées en culture par certaines espèces d'Algues, sur le métabolisme d'autres espèces d'Algues. Verh. int. Ver. Limnol. **10**, 259 (1949).
- MACKINNEY, G.: Criteria for purity of chlorophyll preparations. J. biol. Chem. **132**, 91 (1940).
- MAYENNE, V. A.: Abwasserreinigung durch mehrstufige Teiche und Fischzucht in denselben. Arch. Hydrobiol. **25**, 648 (1933).
- MÜLLER, R.: Zur Verbesserung der Phasenkontrast-Mikroskopie. Mikroskopie **11**, 36 (1956).
- NAUMANN, E.: Notizen zur Systematik der Süßwasseralgen. Ark. Bot. (Stockh.) **16**, 1 (1931).
- NIKLOWITZ, W., u. G. DREWS: Beiträge zur Cytologie der Blaualgen. I. u. IV. Arch. Mikrobiol. **24**, 134 (1956); **27**, 150 (1957).

- PENNINGTON, W.: *Diogenes rotundus*, gen. et sp. nov. — a new alga from experimental tubs. *J. Bot.* **79**, 83 (1941).
- PRATT, R., J. F. ONETO and J. PRATT: Studies on *Chlorella vulgaris*. X. Influence of the age of the culture on the accumulation of chlorellin. *Amer. J. Bot.* **32**, 405 (1945).
- PRINGSHELM, E. G.: The relationship between Bacteria and Myxophyceae. *Bact. Rev.* **13**, 47 (1949).
- RODHE, W.: Can plankton production proceed during winter darkness in subarctic lakes? *Verh. int. Ver. Limnol.* **12**, 117 (1955).
- RYTHER, J. H.: The ecology of phytoplankton blooms in Moriches Bay and Great South Bay, Long Island, New York. *Biol. Bull.* **106**, 198 (1954).
- SACHAROV, N. G., u. E. F. KONSTANTINOVA: Die Abwasserteiche auf den Lublinsker Rieselfeldern in den Jahren 1919 bis 1920. *Ber. Konf. Abwasserreinig.* **11** (1929); russisch, zit. nach VINBERG u. SIVKO.
- UHLMANN, D.: Untersuchungen über die biologische Selbstreinigung häuslichen Abwassers in Teichen. *Wiss. Z. Univ. Leipzig* **8**, 17 (1959).
- UHLMANN, D.: Über den Einfluß von Planktonorganismen auf ihr Milieu. *Int. Rev. Hydrobiol.* (im Druck) (1961).
- VATTER, A. E., and R. S. WOLFE: The structure of photosynthetic bacteria. *J. Bact.* **75**, 480 (1958).
- VATTER, A. E., H. C. DOUGLAS and R. S. WOLFE: Structure of *Rhodomicrobium vannielii*. *J. Bact.* **77**, 812 (1959).
- VINBERG, G. G., u. T. N. SIVKO: Einige Beobachtungen an den „grünen Bakterien“. *Mikrobiologija* **21**, 139 (1952).