Zur Physiologie der Zellteilung von *Closterium*-Arten ¹⁾

Von

Hiroshi Nakamura und **Tadamasa Miduno**

Bot. Institut d. Kaiserl. Universität Tokyo

Eingegangen am 26. Oktober 1938

Über die Art und Weise der Fortpflanzung von *Closterium*-Arten liegen schon die Beobachtungen von mehreren Autoren vor (z.B. A. FISCHER, LUTMAN, SCHERFFEL, SMITH u.a.). Jedoch hat man sich bisher nur selten damit beschäftigt, die Zellteilungsvorgänge dieser Algen unter Berücksichtigung der Einflüsse von verschiedenen äußeren Bedingungen physiologisch näher zu untersuchen. Da uns neulich zwei Arten von *Closterium*, *Cl. Ehrenbergii* und *Cl. Dianae*, zur Verfügung standen, haben wir damit einige Versuche ausgeführt, deren Ergebnisse in Hinsicht auf die Physiologie der Fortpflanzung der niederen Algen von einigem Interesse sein mögen.

Cl. Dianae, dessen Identifizierung nach dem Handbuch von MIGULA erfolgte, wurde aus einem Torfsumpf eines Hochmoors erhalten, während *Cl. Ehrenbergii* uns von Herrn Dr. A. WATANABE in entgegenkommender Weise zur Verfügung gestellt wurde. Die Algen wurden in frischem Brunnenwasser an einem nordlichen Fenster in Rohkultur gehalten, woraus man jederzeit frisches Versuchsmaterial gewinnen konnte.

Die Beobachtungen der Zellvermehrung der kleineren Art, *Cl. Dianae*, wurden an hängenden Tropfen in Feuchtkammer unter Mikroskop ausgeführt. Die Vermehrungszahl der größeren Art, *Cl. Ehrenbergii*, wurde im kleinen Reagenzglas mit Hilfe der Lupe bestimmt. Während der Versuche wurde die Kopulation niemals beobachtet. Die Versuche wurden hauptsächlich während des Monates Mai 1938 ausgeführt.

Die Teilungsrate wurde nach Zeuch auf Grund der Zunahme der Zellenzahl wie folgt ermittelt:

$$\text{Teilungsrate} = \frac{x - x_0}{x_0}$$

x : Die Zahl der am Versuchsende vorhandenen Zellen.

x_0 : Die Zellenzahl am Versuchsbeginn.

---

1) Contributions from the Divisions of Genetics and of Plant-Morphology, Botanical Institute, Faculty of Science, Tokyo Imperial University, No. 214.

Versuchsergebnisse

Einfluß des Lichtes. Wie schon früher LUTMAN, LAPORTE und WENDEROTH u.a. berichtet haben, fand die Zellteilung der Versuchsalgen nicht bei Tag, sondern hauptsächlich in der Nacht statt. Aber es ist schon bekannt daß die Algen bei dauerndem Ausschluß des Lichtes sich nicht vermehren können. 1925 hat KLUGH mitgeteilt, daß die Vermehrung von *Closterium acerosum* am günstigsten im roten Licht, aber nur spärlich im blauen oder grünen stattfindet. In Übereinstimmung mit dieser Angabe haben wir festgestellt, daß die roten Strahlen ($\lambda = 660-710 \mu\mu$) für die Zellteilung von *Cl. Dianae* und *Cl. Ehrenbergii* am günstigsten sind. Neulich haben KUHN, MOEWUS und JERCHEL die hochinteressante Entdeckung gemacht, daß *Chlamydomonas eugametos* im Lichte eine Bewegung bzw. Kopulierung auslösenden Stoff erzeugt, deren chemische Natur auf sinnreicher Weise klargelegt werden konnte. Es ist höchst wahrscheinlich, daß auch *Closterium* im Lichte irgendwelche Stoffe bildet, die die Kopulation bzw. die Zellteilung im Gang setzen.

Einfluß von Sauerstoff. Wie aus Tabelle 1 ersichtlich, teilt sich die *Closterium*-Zelle bei Mangel von Sauerstoff lebhafter als in

Tabelle 1. Einfluß von Sauerstoff auf die Zellteilung von *Closterium*.

Zur anaeroben Kultur wurde der Züchtungs-Apparat nach HOSOYA u. KISHINO angewandt. Bei *Cl. Ehrenbergii*: Versuchsbeginn 10. Mai 10 Uhr vormittags, Versuchsende 16. Mai 10 Uhr vormittags. Bei *Cl. Dianae*: Versuchsbeginn 10. Mai 10 Uhr vormittags, Versuchsende 12. Mai 10 Uhr vormittags.

Atmosphäre	Teilungsraten					
	<i>Cl. Ehrenbergii</i>			<i>Cl. Dianae</i>		
	Nr. 1	Nr. 2	Nr. 3	Nr. 1	Nr. 2	Nr. 3
In Luft	3.0	2.6	2.5	3.5	3.0	4.0
In Wasserstoff	5.1	4.0	4.4	5.6	5.8	5.8
Hemmung durch Sauerstoff (aus Mittelwerte)	40%			43.2%		

Gegenwart desselben. Daß eine lebhafte Zellteilung während der Nacht stattfindet, ist wohl darauf zurückzuführen, daß der Assimilations-Sauerstoff, der nur im Lichte abgegeben wird, die Zellteilungs-Vorgänge ungünstig beeinflusst. Weiter sinken die Algen bei Nacht an den Boden des Kulturgefäßes herab, wo der Sauerstoffgehalt des Nährmediums verhältnismäßig geringer ist als an der Oberfläche, während sie bei Tag (also im Licht) an der Nähe von der Oberfläche des Wassers schwammen.

Einfluß von verschiedenen Substanzen. In der Tabelle 2 sind die Ergebnisse der Versuche zusammengestellt, in denen verschiedene

Tabelle 2. Einfluß von verschiedenen Kohlehydraten auf die Zellteilung von *Closterium*.

Bei *Cl. Ehrenbergii*: Versuchsbeginn 20. Mai 10 Uhr vormittags, Versuchsende 27. Mai 10 Uhr vormittags. Bei *Cl. Dianae*: Versuchsbeginn 20. Mai 10 Uhr vormittags, Versuchsende 22. Mai 10 Uhr vormittags. Atmosphäre des Kulturgefäßes: Wasserstoff.

Zusatz (M/30) Na-Salz von organischen Säuren	<i>Cl. Ehrenbergii</i>		<i>Cl. Dianae</i>	
	Teilungs- raten	Beschleunigung (od. Hemmung) (%)	Teilungs- raten	Beschleunigung (od. Hemmung) (%)
Ohne Zusatz	5.7	—	3.0	—
Glukose	8.2	43.8	5.1	70.0
Fruktose	8.0	40.3	4.8	60.0
Saccharose	9.2	61.4	5.3	76.6
Mannose	6.8	19.3	3.9	30.0
Galaktose	6.3	10.5	3.2	6.6
Ameisensäure	5.2	8.8 (Hemmung)	2.8	6.7 (Hemmung)
Essigsäure	5.0	12.3 „	3.0	0 „
Buttersäure	5.5	3.6 „	3.0	0 „
Äpfelsäure	5.2	8.8 „	3.1	3.3 „
Bernsteinsäure	5.7	0 „	3.2	6.6 „
Milchsäure	5.4	5.3 (Hemmung)	2.8	6.7 (Hemmung)
Brenztraubensäure	5.4	5.3 „	2.8	6.7 „
Oxalsäure	3.8	33.4 „	2.0	33.4 „
Malonsäure	3.0	47.4 „	1.8	40.0 „
Acetaldehyd	2.0	65.0 „	1.8	40.0 „
Äthylalkohol	2.4	56.5 „	1.5	50.0 „

Kohlehydrate hinsichtlich ihrer Einflußnahme auf die Zellteilung von *Closterium* verglichen wurden. Wie ersichtlich, wirken Zuckerarten wie Glukose, Fruktose, Saccharose, Mannose und Galaktose merklich beschleunigend auf die Teilungs-Vorgänge ein. Mehrere organische Säuren wie Ameisensäure, Essigsäure, Buttersäure, Äpfelsäure, Bernsteinsäure, Milchsäure und Brenztraubensäure bleiben fast ohne Einfluß. Oxalsäure und Malonsäure wirken gewissermaßen hemmend. Acetaldehyd und Äthylalkohol waren etwas giftig.

Die deutliche Beschleunigung der Zellteilung durch Zugabe der Kohlenhydrate ist offenbar so zu deuten, daß sie einerseits als Bausteine zur Bildung des neuen Zellmaterials und andererseits als Substrate des Betriebsstoffwechsels, wodurch die für die Zellteilung notwendige Energie disponibel gemacht wird, dienen. Damit ist auch die Beobachtung von LUTMAN erklärbar, daß sich *Cl. Ehrenbergii* um so lebhafter teilen, je mehr Stärke in der Zelle enthalten sind.

Ferner haben wir eine merkwürdige Beobachtung gemacht, daß nämlich die *Closterium*-Zelle sich dann selbst in Gegenwart von Sauerstoff ergiebig teilen kann, wenn dem Medium Cystein zugesetzt wird (siehe Tabelle 3). Schon früher haben HOSOYA und KUROYA sowie QUASTEL festgestellt, daß die anaeroben Bakterien bei Zugabe der SH-Körper aerob gedeihen können. Nach der Angabe von VOEGTLIN und CHALKLEY bewirkt das Glutathion auch ein merkliche

Tabelle 3. Einfluß von Cystein auf die Zellteilung von *Closterium*.

Versuchsanordnung wie Tabelle 1.

Arten	Teilungsraten (Mittelwert)					
	In Luft			In Wasserstoff		
	Ohne Zusatz	Mit Cystein (M/30)	Beschleunigung durch Zusatz (%)	Ohne Zusatz	Mit Cystein (M/30)	Beschleunigung durch Zusatz (%)
<i>Cl. Ehrenb.</i>	2.6	5.1	96.1	4.1	5.0	24.4
<i>Cl. Dianae</i>	3.0	5.6	86.7	5.3	5.8	9.4

Beschleunigung der Kernteilung von *Amoeba proteus*. Alle solche Effekte von SH-Körpern dürften wohl dahin zu deuten, daß dadurch das intrazelluläre Redox-Potential auf ein für die Zellteilungs-Vorgänge günstiges Niveau herabgesetzt wird, oder aber daß der SH-Körper an sich für die Wirkung irgend eines Enzyms oder Enzymsystems, welches sich bei den Zellvermehrungsvorgängen beteiligt, einen notwendigen Faktor darstellt, während in Anwesenheit der größeren Mengen des Sauerstoffs der zelleigene SH-Körper größtenteils zur inaktiven S-S-Form oxydiert wird.

Beim Vergleich der Einflüsse verschiedener Giftsubstanzen auf die Zellteilung von *Closterium* ergibt sich folgendes (Vergl. Tabelle 4). Monojodessigsäure,¹⁾ Natriumfluorid und Phenylurethan sistieren die Zellteilung vollständig, während Blausäure, die nach einigen

Tabelle 4. Einfluß von verschiedenen Giften auf die Zellteilung von *Closterium*.

Bei *Cl. Ehrenbergii*: Versuchsbeginn 7. Mai 10 Uhr vormittags, Versuchsende 13. Mai 10 Uhr vormittags. Bei *Cl. Dianae*: Versuchsbeginn 7. Mai 10 Uhr vormittags, Versuchsende 9. Mai 10 Uhr vormittags. Atmosphäre: Wasserstoff.

Zusatz (1·10 ⁻³ Mol.)	<i>Cl. Ehrenbergii</i>		<i>Cl. Dianae</i>	
	Teilungsraten (Mittelwert)	Hemmung in %	Teilungsraten (Mittelwert)	Hemmung in %
Ohne Zusatz	4.0	—	3.1	—
Blausäure	3.2	20	2.0	36
Monojodessigsäure	0	100	0	100
Natriumfluorid	0	100	0	100
Phenylurethan	0	100	0	100
Natriumarsenit	1.0	75	1.6	52
Kupferchlorid	3.8	5	2.7	13
Quecksilberbichlorid	3.5	13	2.7	13
Hydroxylamin	3.5	13	3.1	0

1) Monojodacetathemmung der Zellteilung wurde früher von RAPKINE bei Seeigelleiern nachgewiesen. Von diesem Autor wurde darauf aufmerksam gemacht, daß das Monojodacetat sich sehr stark mit dem SH-Radikal von Cystein, von Glutathion oder von Protein verbindet.

Autoren ziemlich stark hemmend auf die Zellteilung der Protozoen wirken soll, sich nur schwach schädigend auf die Zellteilung von *Closterium* zeigt. Natriumarsenit wirkt auch ziemlich stark hemmend, dagegen üben Kupferchlorid, Quecksilberbichlorid und Hydroxylamin nur einen unbedeutenden oder praktisch keinen schädlichen Einfluß aus. Natriumarsenit wirkt nach VOEGTLIN und CHALKLEY auf die zytoplasmatische Teilung, nicht aber auf die Kernteilung, von *Amoeba proteus* hemmend. Während die Zellteilung der Seeigeleiern nach RAPKINE durch Quecksilberchlorid gehemmt wird, ist diejenige von *Amoeba proteus* nach REZNIKOFF gegen Quecksilberbichlorid sowie Kupferchlorid refraktär. REZNIKOFF hat dabei angenommen, daß diese Substanzen kaum in das Zytoplasma eingedrungen sein dürften, was auch bei unseren Versuchsobjekten der Fall gewesen sein könnte. Jedenfalls gehen unsere Befunde bei *Closterium* nicht ganz parallel mit denjenigen von anderen Autoren bei Protozoen oder Seeigeleiern. Worauf dies beruht, kann man aber vorläufig schwer einsehen.

Bei Überblick über die erhaltenen Resultate kommen wir zu dem Schluß, daß im großen und ganzen diejenigen Bedingungen, welche auf die glykolytischen Vorgänge hemmend oder herabsetzend wirken, nämlich der Zusatz von Monojodessigsäure, Natriumfluorid oder Phenylurethan, der Zugabe des Sauerstoffs (oder das Einsetzen der Photosynthese) oder der Mangel an Kohlenhydraten ebenfalls mehr oder minder starke Verzögerung der Zellteilung von *Closterium* herbeiführen. Schon früher hat O. WARBURG bei seinen berühmten Untersuchungen über den Stoffwechsel der Tumoren sowie der embryonalen Gewebe darauf aufmerksam gemacht, daß die Intensität des Wachstums und diejenige der Glykolyse immer Hand in Hand geht. Allerdings scheint es uns verfrüht, nur gestützt auf unsere Befunde anzunehmen, daß die Zellteilung auf Kosten derjenigen Energie in Gang gesetzt werde, die durch Glykolyse disponibel gemacht wird. Denn einerseits haben wir bei unseren Algen keine Versuchsbedingung verwirklichen können, wo unter vollständigerem Ausschluß der Sauerstoff-Atmung noch jegliche Zellteilung stattfindet, und andererseits ist es wohl denkbar, daß die Glykolyse, wie einst von SHIBATA und TAMIYA erörtert, auch dafür von Bedeutung sein könnte, daß es für den Wachstumsvorgang nicht nur die Energie, sondern auch die Bausteinsubstanzen liefere.

Zusammenfassung

1) Die Zellteilung der *Closterium*-Arten wird durch Lichtabschluß, Sauerstoffentzug und Zuckerzugabe deutlich gesteigert und

durch Monojodessigsäure und Natriumfluorid, die ebenfalls spezifische Gärungsgifte sind, sichtlich gehemmt.

2) Zusatz von Cystein beschleunigt die Zellteilung dieser Algen und zwar besonders deutlich, wenn den Algen der Sauerstoff zugeführt wird.

Zum Schluß sei es uns gestattet, Herrn Ehrenprof. Dr. K. SHIBATA, Herrn Prof. Dr. Y. SINOTÔ sowie Herrn Dr. H. TAMIYA, für ihre lebenswürdige Unterstützung und Anregung unseren besten Dank auszusprechen.

Literatur

- Chalkley, H. W. and C. Voegtlin. 1931. Pub. Health Repts., 47, 535.
Fischer, A. 1883. Bot. Ztg., 41, 225; 241, 257, 273.
Hosoya, S. and M. Kuroya. 1923. Sc. Repts. Govt. Inst. Inf. Dis. Tokyo, 2, 233; 287.
Klugh, A. B. 1925. New Phytolog., 24, 186.
Kuhn, R., Moewus, F. und D. Jerchel. 1933. Ber. d. deutsch. chem. Gesell., 7, 1541.
Laporte, Louis-Jacques. 1931. Encyclopedie biol., 9,
Lutman, B. F. 1911. Bot. Gaz., 51, 401.
Migula, W. 1907. Kryptogamen-Flora von Deutschland u.a. Berlin.
Quastel, J. H. und M. Stephenson. 1926. Biochem. Journ., 20, 1125.
Rapkine, L. 1930. C. rend. Soc. Biol., 191, 871; 1936. J. Chimie Physik., 33, 493.
Reznikoff, P. 1926. J. gen. Physiol., 10, 9.
Scherffel, A. 1927. Arch. Protistenk., 62, 167.
Shibata, K. und H. Tamiya. 1930. Acta Phytochim., 5, 23.
Smith, W. 1850. Ann. Mag. nat. Hist., 2, s. 5, 1.
Voegtlin, C. und H. W. Chalkley. 1930. Pub. Health Repts., 45, 3041.
—, Rosenthal, S. M. und J. M. Johnson. 1931. Pub. Health Repts, 46, 339.
—, und H. W. Chalkley. 1935. Protoplasma, 24, 365.
Warburg, O. 1926. Über den Stoffwechsel der Tumoren, Berlin, Springer.
Wenderoth, H. 1935. Planta, 24, 784.
Zeuch, L. 1934. Planta, 22, 614.
-