

Copyright ©

Es gilt deutsches Urheberrecht.

Die Schrift darf zum eigenen Gebrauch kostenfrei heruntergeladen, konsumiert, gespeichert oder ausgedruckt, aber nicht im Internet bereitgestellt oder an Außenstehende weitergegeben werden ohne die schriftliche Einwilligung des Urheberrechtinhabers. Es ist nicht gestattet, Kopien oder gedruckte Fassungen der freien Onlineversion zu veräußern.

German copyright law applies.

The work or content may be downloaded, consumed, stored or printed for your own use but it may not be distributed via the internet or passed on to external parties without the formal permission of the copyright holders. It is prohibited to take money for copies or printed versions of the free online version.

Vergleiche zwischen Primärproduktion und Syntheseraten organischer Zellbestandteile mariner Phytoplankter¹⁾

VON MANFRED MATTERNE

Zusammenfassung: Das Problem produktionsbiologischer Phytoplanktonuntersuchungen liegt in der exakten Erfassung der Parameter Produktion und Bestand. Die Messung des Bestandes kann über die Organismenzahlen oder die Bestimmung organischer Zellkomponenten mehr oder weniger quantitativ erfolgen. Die Produktion wird durch direkte Messung der Sauerstoffabgabe oder der Kohlenstoffaufnahme festgestellt.

In der vorliegenden Arbeit sollte überprüft werden, in wie weit die Synthese organischer Komponenten mit der Primärproduktion übereinstimmt und ob je nach physiologischem Zustand einer Population die Syntheseraten dieser Komponenten linear ansteigen oder sich wesentlich verändern und dadurch die Messung dieser Komponenten zur indirekten Bestimmung des Bestandes zu Fehlern führen kann.

In Kulturversuchen mit der aus Wasserproben der Kieler Förde isolierten Heterokonte *Meringosphaera spec.* wurde die Primärproduktion über die Messung der Sauerstoffaufnahme oder -abgabe ermittelt. Die Bestimmung des Sauerstoffgehaltes erfolgte kontinuierlich über 48 Stunden mit einer polarographischen Sauerstoffelektrode nach CLARK (1953) (Ag, Ag₂O-Pt-Elektrode) im Inkubator mit einem zweistündigen Hell-Dunkelwechsel, wobei die eingestrahlte Lichtstärke 3500 lux betrug.

1. Die Chlorophyllsyntheserate steigt bei hoher Assimilationsleistung erheblich an. Dieser Anstieg ist auf steigende Enzymaktivitäten und -konzentrationen bei optimaler Photosynthese zurückzuführen.
2. Die Proteinsyntheserate ist bei starker Photosynthese hoch, verringert sich aber bei mittlerer Assimilationsleistung, um bei schlechtem physiologischem Zustand der Organismen in einen teilweisen Abbau der Gesamtproteinmenge der Zelle überzugehen. Sobald keine positive Assimilation mehr vorhanden ist, wird der Proteinabbau jedoch gehemmt.
3. Die Nukleinsäuresyntheserate verhält sich offensichtlich nahezu linear zur Bruttoproduktion. Die Angaben sind allerdings auf Grund der Analysenmethode mit einer gewissen Unsicherheit behaftet.
4. Die Chlorophyllsyntheserate verhält sich linear zur Proteinsynthese. Bei geringer Photosyntheseleistung erfolgt allerdings neben der Chlorophyllsynthese eine Verringerung der Gesamtproteinmenge. Ein hoher Chlorophyllgehalt pro Einheit zeigt daher eine schlecht wachsende Population an, während ein niedriger Chlorophyllgehalt eine effektive Photosyntheseleistung erwarten läßt.
5. Bei intensiver Proteinsynthese erfolgt eine starke Aufnahme von NO₃-Stickstoff. Der aus den Zuwachsraten von Nukleinsäuren und Proteinen errechnete Mindeststickstoffbedarf kann aber nicht ausschließlich durch die NO₃-N-Aufnahme gedeckt werden; vielmehr sind die Organismen in dieser Phase gezwungen, zusätzlichen Stickstoff aus NH₃- oder organischen Stickstoffverbindungen aufzunehmen. Bei geringer Assimilationsaktivität erfolgt eine Aufnahme von Nitraten, obwohl eine Verringerung des Gesamtproteingehaltes der Zellen zu beobachten ist. Mit diesem Stickstoff kann die Synthese der Nukleinsäuren und Proteine, die neben einem Proteinabbau verläuft, durchgeführt werden. Es ist anzunehmen, daß bei geringer Bruttoproduktion die Phytoplankter organische Stickstoffverbindungen an das Außenmedium abgeben.
6. Durch Quotientenbildung zwischen den Protein- und Chlorophyllgehalten einer natürlichen Phytoplanktonpopulation kann nach der Höhe dieser Quotienten auf die Produktionsmöglichkeit und den physiologischen Zustand der Organismen geschlossen werden. Ein geringer Proteingehalt pro Einheit Chlorophyll (Q kleiner als 30) zeigt einen schlechten physiologischen Zustand des Phytoplanktons an, während ein hoher Proteingehalt (Q größer als 60) auf optimales Wachstum der Organismen und hohe Produktion schließen läßt.
7. Der Proteingehalt erweist sich als repräsentativ für die organische Substanz einer Phytoplanktonpopulation, wenn auch zur Umrechnung Faktoren von 3 bis 5 in Kauf genommen werden müssen. Auf Grund des geringen Anteils des Chlorophylls an der organischen Substanz des Phytoplanktons sind die über diese Komponente errechneten Konzentrationen der pflanzlichen Biomasse als

¹⁾ Die Deutsche Forschungsgemeinschaft ermöglichte die Durchführung dieser Arbeit durch die zur Verfügung gestellten Geräte und eine Sachbeihilfe.

ungenauer anzusehen. Bei der Umrechnung organischer Komponenten als Maß für die lebende organische Substanz des Phytoplanktons müssen jedoch auch beim Proteingehalt, je nach Art und Zustand der vorhandenen Organismen, die Größen der Umrechnungsfaktoren variiert werden, will man von der Konzentration einzelner Zellbestandteile auf die vorhandene organische Substanz schließen.

Comparisons between primary production and synthesis rates of organic cell components in marine phytoplankton (Summary): The problem in studying the primary production of phytoplankton lies in the exact measuring of the parameters production and standing stock. The measuring of standing stock is more or less quantitatively possible by counting the number of organisms or by analytical determination of single organic cell components. The oxygen evolution or carbon uptake is directly related to the primary production.

It was examined: 1. to what extent the synthesis of organic components corresponds to primary production. 2. whether the rate of synthesis of organic components is steadily or logarithmically correlated to primary production according to the physiological condition of a phytoplankton population and 3. whether the use of linear factors leads to mistakes in calculating the biomass or not.

The production capacity of the heterocont Meringosphaera spec. was tested under experimental conditions. The oxygen content was analytically determined continuously over 48 hours using a polarographic oxygen electrode (CLARK 1953, Ag, Ag₂O-Pt-electrode), in an incubator with a light-darkness-change of two hours each (light emission 3500 lux).

1. The rate of chlorophyll synthesis is related logarithmically to assimilation capacity. A rise in the chlorophyll synthesis rate with optimal photosynthesis is due to increasing enzyme concentration and activities.
2. With intensive photosynthesis the rate of protein synthesis is high, with medium assimilation capacity it is diminished; where the physiological condition of the organisms is poor, a part of the total protein content of cells is altered.
3. Obviously the rate of RNA synthesis is almost linearly correlated to the gross production. Because of the analytical method used, the data may, however, be slightly inaccurate.
4. The chlorophyll synthesis is linear correlated to protein synthesis; with small photosynthetic capacity, however, the total protein content is diminished in spite of chlorophyll synthesis. Therefore a high quotient chlorophyll: protein indicates unfavourable growing conditions in the population, whereas a low chlorophyll content suggests high photosynthetic effectivity.
5. An intensive protein synthesis is combined with high NO₃-N-uptake. The minimum -N-requirement, resulting from RNA and protein synthesis in organisms, cannot be met exclusively by NO₃-N-uptake: moreover, the organisms are forced in this phase to take in additional -N- from NH₄-N- or organic -N-. Though a diminishing of the total protein content of cells is to be observed, there is still an uptake of NO₃-N-. With this -N- the synthesis of RNA and protein, walking parallel to protein diminution, is possible. With small gross production the phytoplankton may be considered to discharge organic -N- to the medium.
6. By working out the quotient of protein and chlorophyll contents of natural phytoplankton populations it is possible to recognize the capacity of production and the physiological conditions of the organisms. A small protein content compared to chlorophyll content (Q smaller than 30) indicates a poor physiological condition of phytoplankton, whereas a high quotient (Q higher than 60) indicates optimal growth and high production.
7. The protein content proves to be representative of the organic substance of a phytoplankton population, though factors 3 to 5 have to be taken into consideration. Because of the small amount of chlorophyll in the organic substance of the phytoplankton, the concentration of the plant biomass worked out using this component is to be considered as more uncertain. Even if the protein content is taken as the basis of the mathematical procedure, the value of factors has to be modified according to species and physiological condition of the organisms, if the existing organic substance is to be determined from the concentrations of any cell components.

I. Einleitung

Die Primärproduktion organischer Substanz erfolgt im Meere fast ausschließlich durch das Phytoplankton. Als erstes Glied in der Nahrungskette ist es somit die Ernährungsgrundlage für heterotrophe Organismen in den Gewässern.

Bei der Bearbeitung produktionsbiologischer Fragestellungen ist es unerlässlich, streng zwischen dem „Bestand“ und der „Produktion“ zu trennen.

Zur Erfassung des „Bestandes“ bedient man sich der Zählung der Planktonorganismen (HENSEN 1887). Wenn auch die Organismenzahl mit Hilfe des „umgekehrten“ Mikroskopes (UTERMÖHL 1931) genauestens bestimmt werden kann und durch die Berechnung des „Plasmavolumens“ (LOHMANN 1908) recht gute Aussagen über die „Biomasse“ des Planktons zu erreichen sind, ist diese Methode aus Zeitgründen heutzutage nur noch in beschränktem Umfange anwendbar. Aus diesem Grunde gingen die Bemühungen dahin, chemische Bestimmungsverfahren für einzelne organische Komponenten des Planktons zu entwickeln. Dabei waren zwei Gesichtspunkte von Bedeutung:

1. Die Bestimmungen sollten schnell mit hinreichender Genauigkeit durchgeführt werden können.
2. Die zu analysierenden Bestandteile sollten in einer engen, möglichst konstanten Beziehung zur organischen Substanz der Zellen stehen oder selbst an der Bildung der Biomasse beteiligt sein.

Die Bedingungen des ersten Punktes wurden bald nach der Einführung kolorimetrischer Meßmethoden und der Konstruktion von Spektralphotometern erfüllt. Die zweite Bedingung konnte bis heute nur bedingt erreicht werden. Wenn auch die Messung der Assimilationspigmente ergeben hat, daß der Chlorophyll-a Gehalt des Phytoplanktons 3% bis 4% des Trockengewichtes ausmacht (zusammenfassende Darstellung bei BANSE 1956), liegen die bekannten Extremwerte bei 0,75% (RILEY 1941) und 11,8% (GILLBRICHT 1952). Verfälschungen der Meßwerte durch Chlorophyll, welches nicht mehr an lebende Substanz gebunden ist, können ebenfalls auftreten (RILEY 1941, GILLBRICHT 1952).

KREY (1950) führte die Bestimmung des Eiweißgehaltes in die Planktonforschung ein. Als Hauptbestandteil des Protoplasmas sind die Proteine an sämtlichen Lebensfunktionen eines Organismus direkt oder indirekt beteiligt und somit am ehesten als repräsentativ für die produktive, lebende Substanz anzusehen. Eine Trennung zwischen pflanzlichem und tierischem Eiweiß ist allerdings nicht möglich.

Selbst wenn der Bestand exakt erfaßt werden kann, sind auf Grund indirekter Bestimmungsmethoden keine quantitativen Aussagen über die Produktion organischer Stoffe durch den Bestand zu erreichen.

Die Messung der Produktion ist vielmehr nur über die Bestimmung der Sauerstoffabgabe (GAARDER & GRAN 1927) oder die Kohlenstoffaufnahme (STEEMAN & NIELSEN 1952) der Phytoplanktonorganismen durchführbar.

Aufgabe der im folgenden beschriebenen Versuche war, im Kulturexperiment unter Standardbedingungen festzustellen, inwieweit die über die Sauerstoffabgabe indirekt gemessene Kohlenstoffaufnahme mit der Synthese organischer Komponenten durch die Zellen in Abhängigkeit zu bringen ist. Dabei sollte besonders die Frage berücksichtigt werden, in welchem Umfange verstärkter Aufbau oder Abbau der einzelnen Zellkomponenten, die normalerweise zur Bestimmung des Bestandes verwendet werden, auf unterschiedliche Photosyntheseleistung zurückzuführen ist, und ob aus den Relationen einzelner organischer Komponenten zueinander auf den physiologischen Zustand und damit auf die weitere Produktion einer Phytoplanktonpopulation geschlossen werden kann.

Legende zu den nebenstehenden Abbildungen (Tafel 1)

Abb. 1: Zeichnung von *Meringosphaera spec.*

Abb. 2: Prinzipskizze des Inkubators

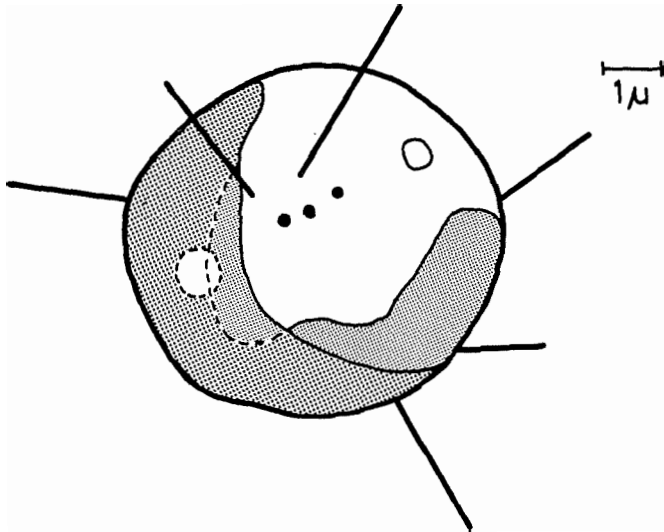


Abb. 1

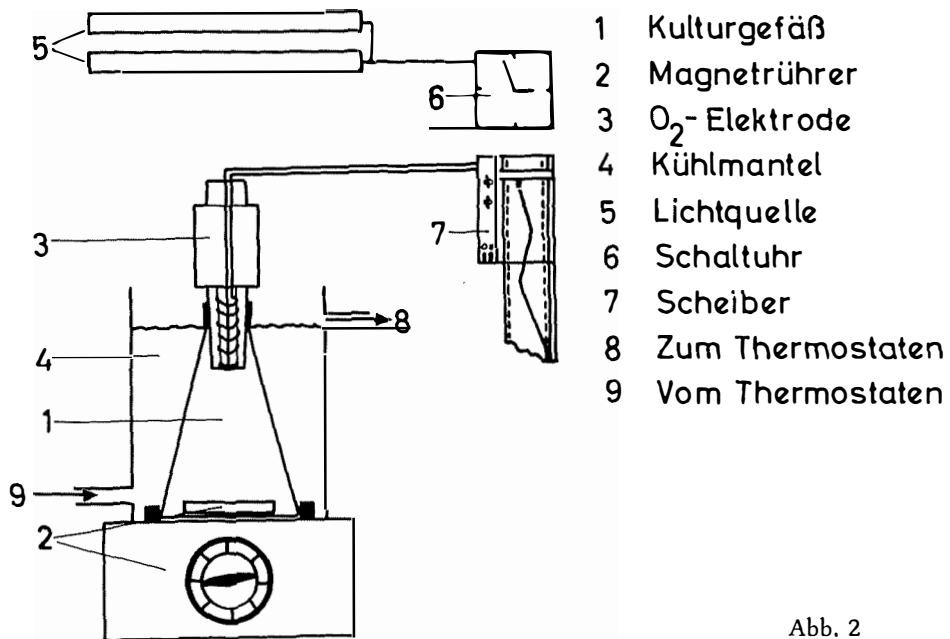


Abb. 2

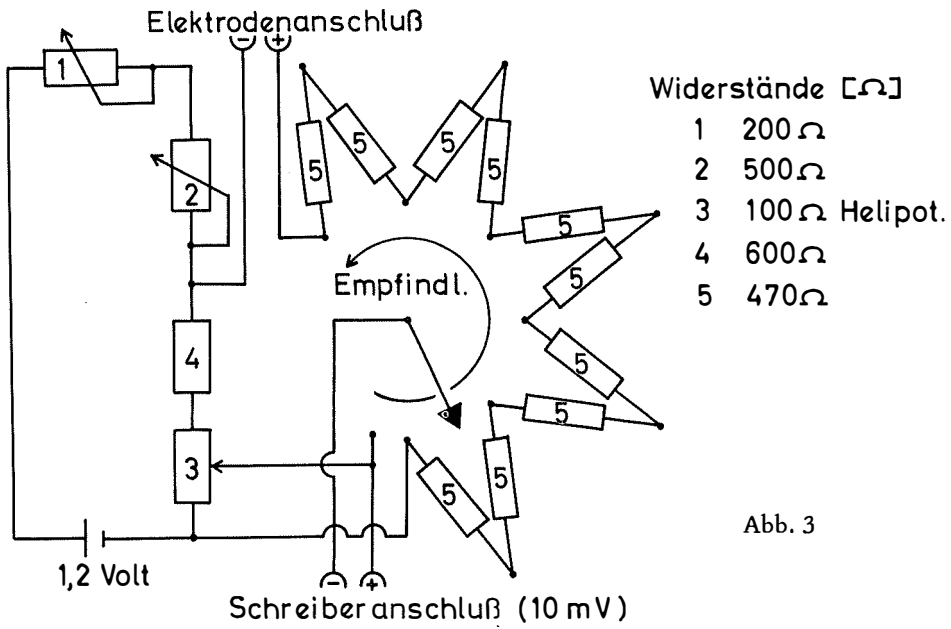


Abb. 3

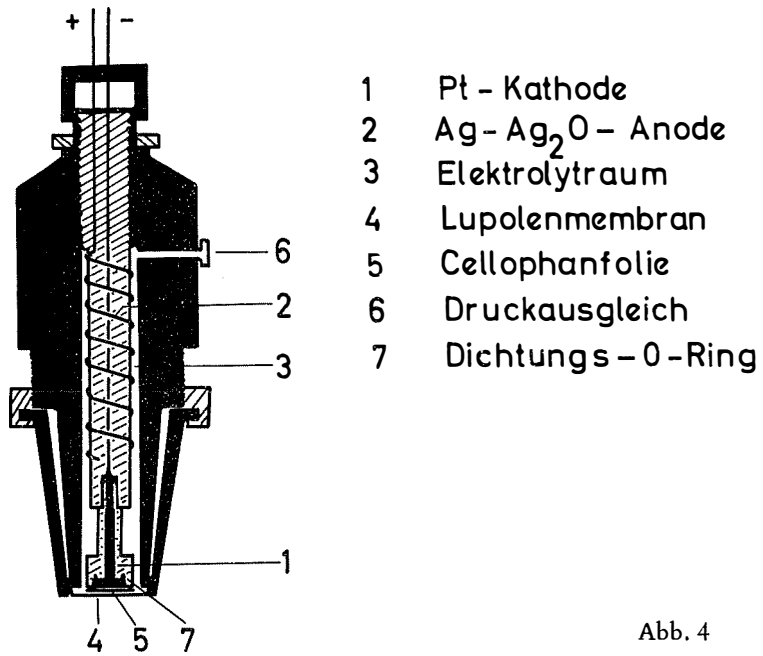


Abb. 4

Dieser Versuch war insofern begründet, als unter anderem auch HICKEL (1966) bei seinen Untersuchungen beachtliche Differenzen in den „Trockengewichten“ der Organismen seiner Proben feststellte, je nachdem, ob er den Chlorophyll-, Eiweißgehalt oder das Plasmavolumen als Berechnungsgrundlage verwandte.

II. Material und Methoden

1. Beschreibung der untersuchten Art

Auf Grund der Tatsache, daß das Nanoplankton oft die Hauptmasse des Phytoplanktons bildet (LOHMANN 1920), und es ein wesentlich effektiverer Produzent als das „Netzplankton“ ist (RODHE 1958), erschien für die durchgeführten Untersuchungen ein Nanoplanktonorganismus geeignet. Da die Isolation kleinster Phytoplankter und damit die Herstellung von reinen Monokulturen erhebliche Schwierigkeiten mit sich bringt und großen Zeitaufwand erfordert, sollten die Untersuchungen an Kulturen verschiedener Nanoplankter erfolgen. Eine möglichst geringe Änderung der Artenzusammensetzung erschien wünschenswert. Im Laufe der Arbeit gelang es, eine Kultur herzustellen, die dieser Bedingung entsprach. Über den gesamten Untersuchungszeitraum bestand die Algensuspension aus einer Art, vereinzelt wurden Beimengungen anderer Arten festgestellt, die aber unterhalb der 1%-Grenze blieben. Selbst wenn die beigemengten Organismen sich wesentlich von der chemischen Zusammensetzung des Kulturorganismus unterschieden hätten, bliebe der dadurch hervorgerufene Fehler innerhalb der Genauigkeit der chemischen Bestimmungsmethoden. Verfälschungen der Meßwerte sind durch die Verunreinigung sicherlich nicht aufgetreten.

Der kultivierte Nanoplankter wurde aus Planktonproben der Kieler Förde isoliert. Es handelt sich um eine Heterokonte; sie wurde als *Meringosphaera spec.* bestimmt. (Abb. 1) Die Zellen sind kugelig oder fast kugelig. Die feste, wohl verkieselte Membran weist kleine, gerade Borsten auf. Der Zelldurchmesser beträgt 5μ bis 7μ . Die Borsten sind $\frac{1}{3}$ bis $\frac{1}{2}$ mal die Länge des Zelldurchmessers, aber sehr schmal; der meist schüsselförmige Chromatophor ist dunkelgrün gefärbt.

Es ist eine große Ähnlichkeit mit der von PASCHER (1939) beschriebenen *Meringosphaera wulfiana* vorhanden.

Differenzen treten nur in der Größe, die PASCHER mit 4μ angibt, und in der Färbung auf. Bei der kultivierten Art sind die Zellen nicht blaßgrün, sondern tiefgrün gefärbt.

LOHMANN (1908) erwähnt eine *Meringosphaera*-Art: „ 6μ groß, tiefgrün gefärbt, mit vier kurzen, spitz auslaufenden, geraden Borsten ausgerüstet. Nur in einem Exemplar beobachtet.“

Wahrscheinlich ist das von LOHMANN beschriebene Exemplar mit dem von mir kultivierten identisch. Die von LOHMANN angegebene Borstenzahl erscheint mir unsicher, weil von ihm nur ein Exemplar beobachtet werden konnte. Ich zählte 9 Borsten, die ebenso wie bei *Meringosphaera wulfiana* zu je dreien in einer Ebene angeordnet waren. Die Zahl der erkennbaren Borsten variierte je nach Lage des Objektes unter dem Mikroskop.

Es erscheint mir nur eine Bezeichnung als *Meringosphaera spec.* möglich, da die Literatur über diese Art wenig aussagt.

Legende zu den nebenstehenden Abbildungen (Tafel 2)

Abb. 3: Benutzte Schaltung für Spannungsmessung

Abb. 4: Elektrodenaufbau

2. Kulturbedingungen

Die Alge wurde in einem Medium kultiviert, welche auf ein Rezept von SCHREIBER (1927) zurückgeht, dem aber der Chelator EDTA in Form seines Dinatriumsalzes zugesetzt wurde. Es wurde natürliches Ostseewasser von 13,45% Salzgehalt verwendet. Die im Wasser enthaltenen Mikroorganismen konnten durch Filtration über eine Filterkerze, (Firma BERKEFELD, Entkeimungsfilter zur Trinkwasserbereitung), maximale Porenweite 1μ , entfernt werden.

Zu einem Liter Wasser wurde zugefügt: 42,5 mg NaNO_3 , 10,7 mg $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$, 20 mg NaHCO_3 , 3 mg Na_2EDTA und 50 ml einer in einer Soxhlet-Rückfluß-Destillationsapparatur bereiteten Erdabkochung.

Die Kultivierung erfolgte im temperaturkonstanten Wasserbad bei 20° C. Als Beleuchtungsquelle dienten Leuchtstoffröhren; die eingestrahlte Lichtstärke wurde mit 3500 lux bestimmt.

Durch Adaptieren an einen zweistündigen Hell-Dunkelwechsel waren die Organismen auf den im Inkubator zur Produktionsbestimmung erforderlichen Rhythmus eingestellt.

3. Probennahme und Aufbewahrung

Die Probennahme zur Analyse auf den Chlorophyllgehalt, die Eiweißkonzentration, die vorhandenen Nukleinsäuren und den gelösten Nitrat-Stickstoff erfolgten unmittelbar vor und nach jeder Produktionsbestimmung im Inkubator. Das Kulturmedium und die Plankter wurden mit einem Magnetrührer gründlich durchmischt, um eine homogene Verteilung der Organismen zu erreichen. Die Entnahme aliquoter Mengen war durch genau eingestellte REKORD-Glasspritzen mit einem Fehler kleiner als 0,1% möglich. Durch Einfüllen entsprechender Probenmengen und Zentrifugation konnten die Analysen nach der Aufbewahrung unmittelbar in den Probenflaschen durchgeführt werden, womit Fehler, die sich durch häufiges Überführen der Proben in verschiedene Reaktionsgefäße summieren, vermieden wurden. Die Proben wurden eingefroren und bei -30°C aufbewahrt.

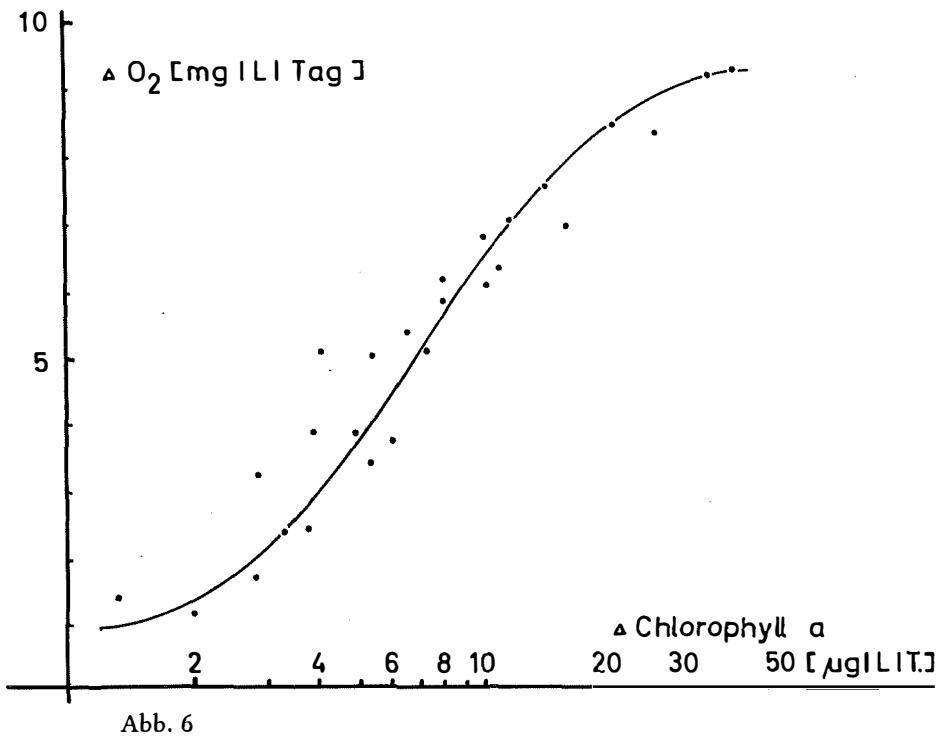
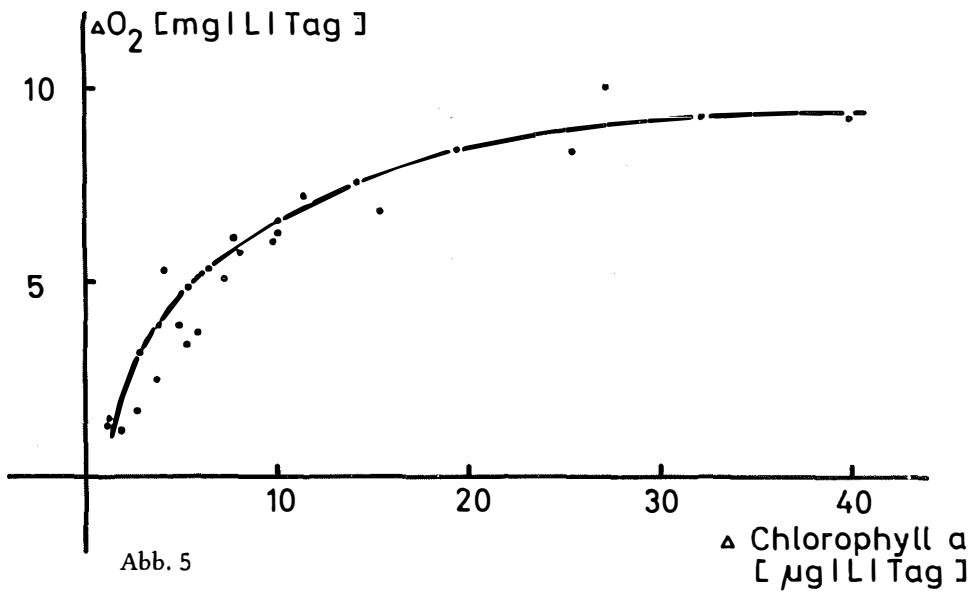
Sobald eine für eine kolorimetrische Reihenanalyse ausreichende Probenzahl vorhanden war, erfolgten die Bestimmungen. Es wurde darauf geachtet, daß die zusammengehörenden Proben (Probe vor und nach der Produktionsmessung im Inkubator) sich auch immer in einer Meßreihe befanden. Kleinere Fehler, die sich z. B. durch geringe Differenzen in der Zusammensetzung der Reagenzien oder der Dauer der Ausfärbezeit der Farbreaktionen ergeben, ließen sich dadurch vermeiden. Proben, die bei der Bestimmung der Produktion (vergl. II. 4) auf einen steigenden Bakteriengehalt schließen ließen, wurden in der Auswertung nicht berücksichtigt. Das Vorhandensein störender Bakteriengehalte konnte durch fallende Assimilations- und steigende Respirationseistung sofort an Hand der Registrierung des Sauerstoffgehaltes während der Produktionsbestimmung festgestellt werden.

Versuche, mit Penicillin -G- Kalium die Bakterien abzutöten, waren erst bei Konzentrationen von 750 I.U. pro Milliliter erfolgreich. Außerdem hemmen spezielle Antibiotika, wie z. B. Chloramphenicol, die Protein- und Nukleinsäuresynthese (vergl. III. 2.2.) und haben starken Einfluß auf die Bildung von Enzymen. Aus diesen beiden

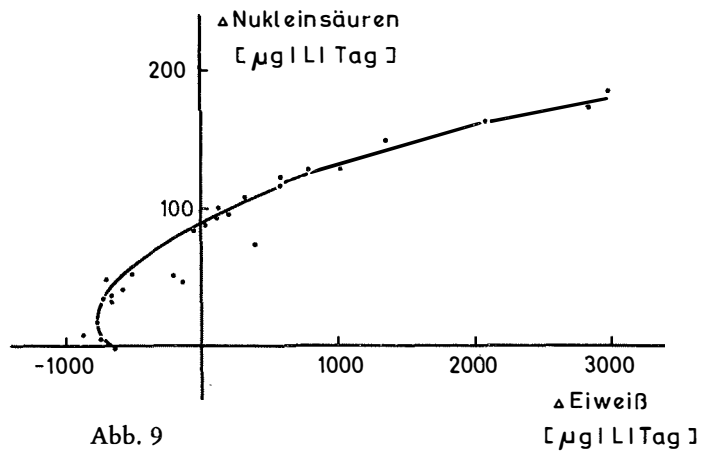
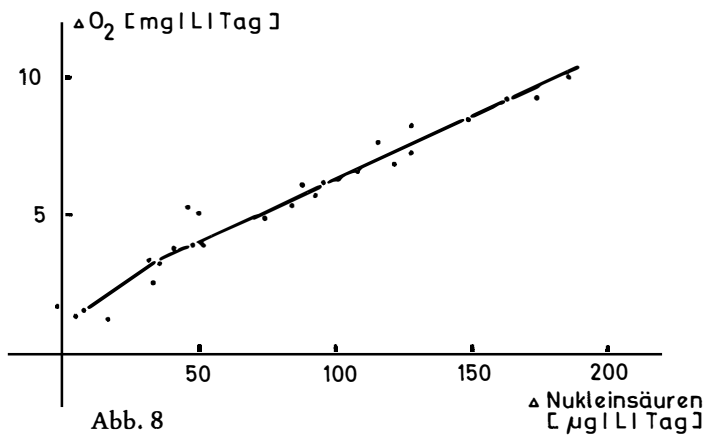
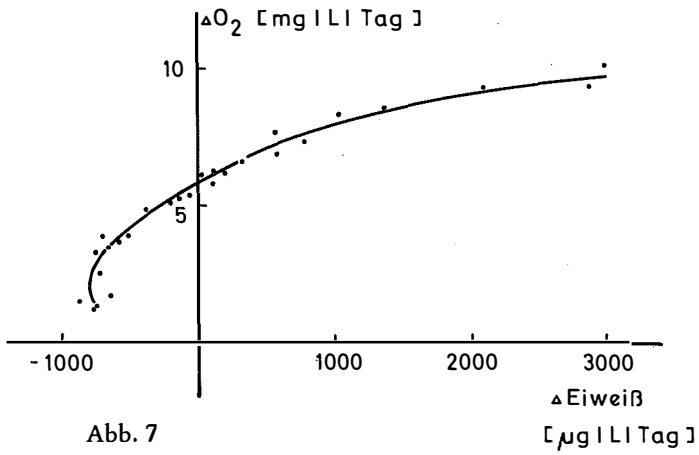
Legende zu den nebenstehenden Abbildungen (Tafel 3)

Abb. 5: Sauerstoffbruttoproduktion bei verschiedener Chlorophyllsyntheserate (Angaben bezogen auf 1 Liter und 24 Stunden)

Abb. 6: Sauerstoffbruttoproduktion bei verschiedener Chlorophyllsyntheserate



Tafel 3 (zu M. Matterne)



Tafel 4 (zu M. Matterne)

Gründen (hohe erforderliche Konzentrationen und Wirkung auf die Synthesevorgänge) wurde auf die Anwendung von Antibiotika verzichtet.

4. 1. Messung der Primärproduktion

Polarographische Sauerstoffbestimmung zur Ermittlung der Primärproduktion im Inkubator.

Zur Berechnung der Bruttoproduktion wurde die Assimilationsleistung und die Respirationsrate der Kulturorganismen im Inkubator (Prinzipiskizze in Abb. 2) mit einer polarographischen Sauerstoffelektrode nach CLARK (1953) und KANWISHER (1959) bestimmt. Da das Prinzip der Elektrode von SCHRAMM (1966) ausführlich dargestellt wurde, wird an dieser Stelle auf eine weitere Erklärung verzichtet und nur die Schaltung (Abb. 3) und der Aufbau der Elektrode (Abb. 4) wiedergegeben. (Weitere Literatur: GLEICHMAN & LÜBBERS 1960, GRASSHOFF 1962 b)

Als Inkubator diente ein Holzkasten, der durch eine Klappe an der Frontseite dicht verschlossen werden konnte. Zur Vermeidung von störenden Lichtreflexen waren die Innenseiten schwarz angestrichen. Als Beleuchtungsquelle waren zwei Leuchtstoffröhren der Firma PHILIPS, Typ TLD 15, W 32, warmwhite de luxe installiert. Die eingestrahlte Lichtstärke wurde mit 3500 lux bestimmt. Die von den Leuchtstoffröhren ausgehende Wärmestrahlung konnte durch eine Glasscheibe vor den Röhren verringert und durch einen durchsichtigen Kühlmantel (4) um die Meßzelle (1), der von einem Thermostaten auf konstanter Temperatur gehalten wurde, abgeleitet werden. Durch magnetisches Rühren (2) in der Meßzelle herrschte an der Elektrodenmembran stets der gleiche p_{O_2} wie im Kulturmedium. Dieses Rühren verhinderte gleichzeitig ein Absetzen der Phytoplankter und vermied damit eine Verringerung der Assimilationsleistung.

Um bei den zu untersuchenden Proben pro Tag möglichst viele Produktionsbestimmungen vornehmen zu können, ohne daß dabei die zu analysierenden Änderungen der Sauerstoffkonzentrationen zu gering, d. h. zu nahe an der Fehlergrenze der Bestimmung, waren, wurden die Organismen einem zweistündigen Hell-Dunkelwechsel ausgesetzt.

Die in den „Vorratsflaschen“ kultivierten Plankter wurden zur Primärproduktionsbestimmung in 250 ml frisches Kulturmedium überführt. Nach der Höhe der Zellzahlen in den Ausgangskulturen erfolgte die Dosierung der Zugabemenge zum frischen Medium, damit die Zuwachsraten in den einzelnen Versuchen aufeinander bezogen werden konnten.

Jeder der in den folgenden graphischen Darstellungen (Abbildung 5—14) wiedergegebenen Punkte entspricht einer einzelnen Probe, bei der die Bruttophotosyntheseleistung und der Zuwachs einzelner organischer Komponenten pro Zeiteinheit bestimmt wurden. Die normale Versuchsdauer betrug 48 Stunden. Bei Proben, die optimale Photosyntheseleistung aufwiesen, mußte durch Verkürzen der Versuchsdauer auf 24 Stunden eine Übersättigung des Versuchswassers und damit Ausgasen des Sauerstoffs aus dem Medium verhindert werden. Der Zuwachs oder die Abnahme organischer Komponenten konnte durch Differenzbildung zwischen den Konzentrationen in den Proben vor- und nach der Produktionsmessung ermittelt werden. Die Probe vor der Sauerstoffanalyse wird im folgenden als Anfangs- oder A.-probe, die nach der Messung im Inkubator

Legende zu den nebenstehenden Abbildungen (Tafel 4)

Abb. 7: Das Verhältnis der Bruttosynthese zum Proteinstoffwechsel (Linearer Maßstab)

Abb. 8: Nukleinsäuresyntheseraten verglichen mit der Bruttoproduktion

Abb. 9: Nukleinsäuresyntheseraten im Verhältnis zum Proteinstoffwechsel

als End- oder E.-probe bezeichnet. Die sich im Laufe des Versuches ergebenden Sauerstoffzu- bzw. -abnahmen ergaben summiert und auf 24 Stunden umgerechnet die Bruttoproduktion. Da die Bestimmungen fortlaufend mit den Ausgangskulturen durchgeföhrt wurden, ergeben die erhaltenen Abhängigkeiten die Verhältnisse der Produktion organischer Komponenten bei verschiedener Assimilationsleistung und verschiedenen physiologischen Zuständen der Phytoplankter.

5. Analysenverfahren zur Bestimmung einzelner organischer Komponenten des Phytoplanktons und anorganischer Nährstoffe.

5. 1. Bestimmung des Chlorophyllgehaltes

Von den Proben wurden aliquote Mengen abgefüllt und durch Zentrifugieren (10 min. bei 4000 g) sedimentiert. Durch diese Behandlung schlugen sich die Zellen quantitativ nieder. Das über dem Sediment stehende Wasser wurde durch Absaugen mit einer Wasserstrahlpumpe über eine fein ausgezogene Kappillare entfernt und nicht durch Dekantieren, da eine Aufwirbelung des Sedimentes vermieden werden mußte, um eine quantitative Erfassung der sedimentierten Zellen möglich zu machen. Die Extinktion der methanolischen Chlorophylllösungen wurden in einem Spektralphotometer, PMQ II der Firma ZEISS, bei einer Wellenlänge von 665 nm gemessen. Für die Umrechnung auf absolute Konzentrationen wurde eine Eichung verwendet, die Herr Dr. LENZ dankenswerterweise zur Verfügung stellte. Die Genauigkeit der Bestimmung wird von LENZ (1963) mit 0,3 µg als unterer Nachweisgrenze angegeben.

5. 2. Bestimmung des Eiweißgehaltes

Die Bestimmung der Proteingehalte erfolgte nach der Methode von LOWRY et al. (1951) mit Folin-Ciocalteus-Phenolreagenz. Von den zu analysierenden Algensuspensionen wurden aliquote Mengen abgefüllt und durch NaOH-Lösung auf eine Normalität von 0,2 gebracht. Die Reaktionsdauer für diesen Aufschluß betrug 24 Stunden, und erfolgte im Dunkeln bei Raumtemperatur. Da die Proteinkonzentrationen in den Kulturen durch die großen Zellzahlen wesentlich höher als unter in-situ Bedingungen waren, konnte das Verfahren nach LOWRY ohne Anreicherung der Organismen auf Filtern unmittelbar in den Zellsuspensionen angewendet werden. Als günstig für die Direktbestimmungen erwies sich auch der hohe Extinktionskoeffizient der Farbreaktion. Nach LOWRY (1951) ist er etwa einhundertmal größer als der der Biuretreaktion. Ohne Anreicherungsverfahren lassen sich, bei einer Ablesegenauigkeit am Spektralphotometer auf ± 0.005 Extinktionseinheiten, noch Differenzen von 0,1 µg Eiweiß pro ml Reaktionslösung erfassen. Im Bereich der bei den Untersuchungen auftretenden Eiweißkonzentrationen gehorchte die Farbintensität dem LAMBERT-BEER'schen Gesetz. Die Eichung des Verfahrens erfolgte mit Eieralbumin der Firma MERCK, Darmstadt; deshalb sind die in dieser Arbeit angegebenen absoluten Eiweißgehalte immer als Albuminäquivalente zu verstehen.

5. 3. Die Bestimmung des Nukleinsäuregehaltes

Nukleinsäuren weisen ein starkes Maximum der Lichtabsorption im ultravioletten Bereich des Spektrums auf. Diese Eigenschaft wird bei der Bestimmungsmethode von SCHNEIDER (1945, 1957), modifiziert von OGUR & ROSEN (1950), zur Erfassung der Nukleinsäurekonzentrationen von Organismen ausgenutzt. Extinktionsmessungen bei einer Wellenlänge von 260 nm, verglichen mit der Eichung durch eine Testnukleinsäure, ergeben Aufschluß über die Konzentration von Nukleinsäuren in einem Medium, allerdings ohne daß eine Trennung von RNS und DNS möglich ist. Bei den durchgeföhrteten Analysen erfolgte die Extraktion durch 6%ige Perchlorsäure, 30 Minuten bei 90° C. Eine Anreicherung wurde wie bei der Eiweißbestimmung umgangen, da die zu messen-

den Konzentrationen ausreichend hoch waren. Nach Zentrifugieren der Proben, aus dem gleichen Grunde wie in II. 5. 2. erläutert, konnte die Messung bei der Wellenlänge 260 nm im PMQ II durchgeführt werden. Als Eichsubstanz diente Natriumnukleinat aus Hefe (Fa. MERCK, Darmstadt); die im Text als Nukleinsäure in μg angegebenen Werte sind daher als Nukleinat-Äquivalente zu verstehen. KERN (1960) gibt an, daß mit der E_{260} -Messung gewonnene Konzentrationsangaben leicht zu hoch ausfallen, da andere Stoffe, die ebenfalls im UV absorbieren (z. B. Flavonoide), die Meßwerte verfälschen können. Da bei der Ermittlung der Zuwachsraten die Differenzen zwischen den Anfangs- und Endproben gebildet wurden, dürfte dieser Fehler, ebenso wie der durch Trübungsstoffe hervorgerufene, rechnerisch eliminiert worden sein. Für den Fall, daß sich die störenden Stoffe durch die Assimilationsleistung der Organismen während der Primärproduktionsbestimmung ebenfalls vermehrten, ist nicht auszuschließen, daß die im Text gemachten Angaben zu hoch sind.

6. Die Bestimmung des Nitratgehaltes

Der Nitratgehalt wurde nach Reduktion des NO_3 in Jones-Reduktoren als NO_2 über die Bildung eines Azofarbstoffes (BENDSCHNEIDER & ROBINSON 1952) ermittelt. Die Eichung erfolgte gegen Natriumnitratstandard, der, ebenfalls durch die Reduktoren zu Nitrit umgewandelt, bestimmt wurde.

III.

1. Änderung der Chlorophyllsyntheserate bei verschiedener Bruttoproduktion

Prototrophes Wachstum ist nur denjenigen Organismen möglich, die über Photorezeptoren, Photopigmente, die photosynthetische Elektronentransportkette und den reduktiven Pentose-Phosphor-Kreislauf oder andere Reaktionsketten zur Kohlenstoffreduktion verfügen.

Die Aktivität eines speziellen Enzymes des reduktiven Pentose-Phosphor-Kreislaufes, der Ribulose — 1,5 — diphosphatcarboxylase, wurde als Funktion der Wachstumsbedingungen verschiedener Organismen von FULLER & GIBBS (1959), LASCELLES (1960) und FULLER & SMIE (1961) beschrieben. Dieses Enzym katalysiert die Reaktion des Kohlendioxyds mit Ribulose — 1,5 — disphosphat (RuDP) in photosynthetisch lebenden Organismen.

HALL et al. (1959) zeigten, daß neben der RuDP-carboxylase die Festlegung von Kohlenstoff noch durch ein anderes System erfolgt, welches unter anderem die Enzyme Phosphoriboisomerase und Phosphoribulokinase enthält, und daß diese Enzyme ihre Aktivität während des Wachstums ändern. Obwohl in der vorliegenden Arbeit die entsprechenden Enzymaktivitäten nicht bestimmt wurden, muß angenommen werden, daß sich beim Wachstum der untersuchten *Meringosphaera spec.* ebenfalls die Konzentrationen und Aktivitäten der Enzyme ändern, da es sich um einen photosynthetisch lebenden Organismus handelt.

Abbildung 5 zeigt, daß eine nichtlineare Beziehung zwischen der Bruttoproduktion und der Chlorophyllsyntheserate besteht. Bei intensiver Assimilation kommt es zu einer relativ größeren Chlorophyllsynthese als bei geringer Sauerstoffabgabe. Da das Chlorophyll bei der Photosynthese das entscheidende Pigment ist, liegt die Annahme nahe, daß bei konstanter Belichtung immer die gleiche Sauerstoffmenge pro Einheit Chlorophyll abgegeben wird. Weil das bei den durchgeführten Untersuchungen nicht der Fall war, bliebe eigentlich nur der Schluß, daß die sich verringemde Sauerstoffproduktion auf die steigende Zelldichte während der Versuche zurückzuführen sei. Die Energieversorgung pro Zelle und Einheit Chlorophyll hätte sich dadurch so verringert, daß sie nicht für eine linear ansteigende Sauerstoffabgabe ausreichend war.

In der Tat stellte MYERS (1946) fest, daß der Chlorophyllgehalt von *Chlorella* invers mit der Lichtintensität verbunden ist, bei der die Kulturen herangezüchtet wurden. Bei Versuchen STEEMAN-NIELSEN's (1962) mit dem gleichen Objekt ergab sich, daß der Chlorophyllgehalt pro Zelle sich verdoppelte, sobald die eingestrahlte Lichtenergie verringert wurde. Allerdings traten diese Änderungen erst bei Herabsetzung der Belichtungsstärke von 30000 lux auf 3000 lux auf.

Derartige Veränderungen der Belichtungsenergie sind so enorm, daß sie in meinen Versuchen zu vernachlässigen sind. Daß in den beschriebenen Versuchen die Steigerung der Chlorophyllsynthese auf ein vermindertes Lichtangebot zurückzuführen ist, erscheint unwahrscheinlich (MORRISON-CASSIE 1963). Warum aber eine Verringerung der Beleuchtungsstärke eine Steigerung der Chlorophyllsynthese in der Zelle hervorrufen soll, ist nach SHUGARMAN & APPLEMAN (1966) noch nicht geklärt.

Betrachtet man Abbildung 6, bei der für die Chlorophyllzunahme ein logarithmischer Maßstab gewählt wurde, so erkennt man, daß es sich nicht um eine lineare Abhängigkeit handeln kann, da die Punkte nicht gleichmäßig um die berechnete Ausgleichsgerade streuen, sondern im unteren Teil rechts und im oberen Teil links von der Gerade liegen. Die sich ergebende Form der Abhängigkeit ist denen zu vergleichen, die aus der Fermentkinetik bekannt sind (RAUEN 1956). Es handelt sich um eine Sättigungs- oder Hemmungskurve. Daß die in den durchgeführten Versuchen festgestellten Änderungen durch Enzymaktivitäten induziert wurden, ist somit wahrscheinlich. Eine stärkere Chlorophyllsynthese bei optimaler Bruttoproduktion wäre demnach auf eine Steigerung der Enzymaktivitäten und -konzentrationen, und nicht auf die Verringerung des Lichtangebotes zurückzuführen.

Der „Wendepunkt“ der Kurve liegt bei einer Chlorophyllsyntheserate von etwa 8 μg pro Liter und Tag. Die Sauerstoffabgabe pro Einheit neugebildeten Chlorophylls ist im Bereich unterhalb des Wendepunktes intensiv im Vergleich zur Chlorophyllsynthese. Je stärker die Bruttoproduktion jedoch steigt, desto geringer wird sie, verglichen mit der Chlorophyllsynthese. Das Verhältnis beider Parameter zueinander ändert sich zugunsten der Chlorophyllsynthese je weiter man sich vom „Wendepunkt“ entfernt.

Eine nicht vorhandene Bruttoproduktion kann man folgerichtig nur sehr schlecht und ungenau aus dem Chlorophyllgehalt der Phytoplanktonzellen ableiten, da sich die Konzentration des Chlorophylls in den Zellen während der einzelnen Entwicklungsphasen ändert. Darüber kann auch die relative Konstanz der Assimilationszahl (AZ), nach WILLSTÄTTER & STOLL (1918), nicht hinwegtäuschen. Unter optimalen Bedingungen schwanken die Werte der AZ nach Angaben der genannten Autoren zwischen 6 und 9. Auf die vorhandenen Kulturen bezogen, ergibt diese Schwankung Differenzen von 10 μg assimilierten Kohlenstoffs pro 1 μg Chlorophyll und Tag, d. h. bei den im Mittel vorhandenen 90 μg Chlorophyll etwa 0,9 mg C pro Liter und Tag.

Die Änderung der Chlorophyllsyntheserate verglichen mit der Sauerstoffabgabe wird in neuerer Zeit von mehreren Autoren betont: HUDOCK et al. (1966) stellten fest, daß bei *Chlamydomonas reinhardi* die Änderung der Rate der Sauerstoffproduktion dem Anstieg des Chlorophyllgehaltes nicht direkt proportional war. Die Rate erhöhte sich langsam bis ein Gehalt von etwa 0,5 μg Chlorophyll pro 10^6 Zellen erreicht wurde, erst dann erfolgte eine schnellere Zunahme der Sauerstoffrate. Die Bruttoproduktion erreichte ein Maximum bei einer Chlorophyllkonzentration von 1,5 bis 2,0 μg pro 10^6 Zellen. KATAYAMA & BENSON (1967) fanden ebenfalls keine lineare Abhängigkeit der Chlorophyllsynthese von der Bruttoproduktion.

Ein Versuch, der die Wichtigkeit der Enzymaktivitäten in den verschiedenen Wachstumsphasen zeigt, wurde von SHUGARMAN & APPLEMAN (1964) durchgeführt. Sie untersuchten Kulturen von *Chlamydomonas reinhardi*, die

- a) einen hohen Chlorophyllgehalt, aber niedrige Photosyntheseleistung und
- b) niedrigen Chlorophyllgehalt, aber hohe Photosyntheseleistung aufwiesen.

Es zeigt sich, daß die Organismen mit dem niedrigen Chlorophyllgehalt die größere Effektivität pro Einheit des Pigmentes hatten, d. h. sie produzierten unter sonst gleichen Bedingungen etwa 30% mehr Sauerstoff als die Vergleichskulturen (a). Die Bedingungen, unter denen sich eine Phytoplanktonpopulation über längere Zeit befunden hat, sind daher ausschlaggebend für ihre Produktivität.

Daß hohe Enzymkonzentrationen mit hohen Chlorophyllgehalten parall gehen, wurde von HUDOCK & BART (1967) ebenfalls festgestellt. Sie erhielten bei *Chlamydomonas reinhardi* bei hohen Chlorophyllkonzentrationen wesentlich größere Mengen an Glutaminsäuredehydrogenase als bei geringen Chlorophyllgehalten. Interessant ist die Tatsache, daß sie bei geringer Chlorophyllsynthese eine relativ stärkere Zunahme dieses Enzymes feststellten als bei hohen Chlorophyllkonzentrationen. Es scheint eine Parallele zwischen der Bildung dieses Enzymes und der Bruttoproduktion vorzuliegen.

Die Konzentrationen anderer Enzyme steigen ebenfalls mit den Gehalten an Chlorophyll an. HUFFACKER et al. (1966) fanden bei *Hordeum vulgare* eine lineare Abhängigkeit zwischen dem Chlorophyllgehalt und der Phosphoribulokinase bei Beleuchtungsstärken von 1000 lux bis 20000 lux. Erst bei etwa 500 lux änderte sich die Konzentration der Phosphoribulokinase nicht mehr linear mit dem Chlorophyllgehalt. Bei ähnlichen Versuchen mit *Chlamydomonas reinhardi* fanden HUDOCK & LEVINE (1964) gleichfalls einen starken Anstieg der Konzentration von RuDP-carboxylase und photosynthetisch aktiver Pyridin-Nukleotid-Reduktase verbunden mit hohem Chlorophyllgehalt.

Die ermittelte Abhängigkeit der Chlorophyllsyntheseraten von der Bruttoproduktion läßt über die Ergebnisse der genannten Autoren den Analogieschluß zu, daß bei den vorhandenen Kulturbedingungen der Anstieg des Chlorophyllgehaltes nicht auf eine Verringerung des Lichtangebotes pro Zelle zurückzuführen ist, sondern daß hier die sich ändernden Enzymaktivitäten und -konzentrationen entscheidend sind. Hierauf weisen auch die im folgenden beschriebenen Verhältnisse beim Proteinstoffwechsel hin.

Wenn auch nach ODUM (1963) unter in-situ-Bedingungen keine vergleichbar großen Schwankungen des Chlorophyllgehaltes pro Zelle zu beobachten sind, so scheint durch die Kulturversuche nachgewiesen zu sein, daß der Chlorophyllgehalt nur begrenzte Aussagen über die Produktivität einer Phytoplanktonpopulation zuläßt.

2. Änderungen des Eiweißstoffwechsels bei sich ändernder Assimilationsleistung

Abbildung 7 zeigt die Abhängigkeiten zwischen der Bruttophotosynthese und dem Proteinstoffwechsel im linearen Maßstab aufgetragen. Die Kurve soll zur besseren Verständlichkeit in drei Bereiche unterteilt werden:

1. Bereich maximaler Photosyntheseleistung
2. Bereich minimaler Photosyntheseleistung
3. Bereich mittlerer Photosyntheseleistung

Die drei Bereiche stellen jeweils verschiedene Zustände im Proteinhaushalt der Zellen dar und sollen einzeln behandelt werden.

2.1. Im Bereich der maximalen Photosyntheseleistung kommt es zu einer erheblichen Neubildung von Proteinen. In dieser Phase ist der Proteinaufbau nahezu linear mit der Sauerstoffproduktion korreliert. Die Assimilationsvorgänge sind so intensiv, daß sie den Organismen nicht nur die Aufrechterhaltung der lebenswichtigen Stoffwechselfvorgänge erlauben, sondern es auch noch ermöglichen, größere Mengen Proteine für weitere Enzymbildung (FOWDEN 1962) und auch zur Bildung von Reserveproteinen zu synthetisieren. Da die Proteine neben den Kohlehydraten wichtige Reservestoffe der

Zelle sind, können sie, falls ein Mangelzustand eintritt, wieder zu Aminosäuren abgebaut werden. Die bei optimaler Photosynthese im Überschuß gebildeten Kohlehydrate werden in der Dunkelphase ebenfalls in Proteine umgewandelt (LORENZEN & RUPPEL 1959). WERNER (1965) fand bei *Cyclotella* nach 12 Stunden Dunkelheit eine Abnahme des Kohlehydratgehaltes um 90% und eine Zunahme des Proteingehaltes um 40%. Unter optimalen Lebensbedingungen sind die Organismen in der Lage, aus den energiereichen Kohlehydraten noch energiereichere Proteine als Reservestoffe zu bilden.

2.2. Bei geringer Photosyntheseleistung erfolgt ein Abbau von Proteinen, der möglicherweise durch einen Bedarf der Zellen an Aminosäuren hervorgerufen wird. Der Abbau verstärkt sich aber nicht in dem Maße, wie sich die Photosyntheseleistung verringert, sondern erreicht bei einer bestimmten Assimilationsleistung seinen maximalen Wert. Bei niedriger Bruttoproduktion tritt offensichtlich eine Hemmung des Proteinabbaues auf. SCHLESSINGER und F. B. HAMIDA (1966) haben den Proteinstoffwechsel von *Escherichia coli* untersucht und finden ebenfalls, daß eine Hemmung des Proteinabbaues eintritt, wenn sich der Organismus im Bereiche geringer Stoffwechselleistung befindet; Sie geben an, daß ein Abbau von Proteinen eine geringe Proteinsynthese voraussetzt. Wenn sich jedoch die Proteinsynthese zu stark verringert, erfolgt eine starke Einschränkung des Proteinabbaues.

Für eine solche Hemmung führen die genannten Autoren zwei Erklärungsmöglichkeiten an:

A. Die durch den Proteinabbau freiwerdenden Aminosäuren vergrößern den „internal pool“ so sehr, daß sie selbst zu Hemmfaktoren für die Proteaseaktivität werden.

Eine Proteinsynthese würde dann, nicht weil sie ein bestimmtes Enzym bildet, den Proteinabbau fördern, sondern weil sie die störenden Aminosäuren wieder aus dem „internal pool“ entfernt.

B. Die Aminosäuren führen die Hemmung in Form bestimmter Komplexe durch, so z. B. als Aminocyltransfer-RNS-Komplexe. Solche Komplexe bilden sich auch bei der Behandlung von Zellen mit Chloramphenicol und scheinen einen intensiven Einfluß auf Enzyme zu haben (LACKS & GROS 1959). Es muß also eine, wenn auch geringe, so doch fortlaufende Proteinsynthese für einen Proteinabbau gefordert werden.

Bei den durch geführten Untersuchungen wurde nur die Summe der Proteine bestimmt, die sich aus Proteinaufbau und Proteinabbau ergibt. Daher ist aus den Analysendaten eine Aussage, ob im Bereich geringer Assimilationsleistung neben dem Proteinabbau noch ein -aufbau erfolgt, nicht möglich.

Da aber eine Proteinsynthese vorhanden sein muß, läßt sich an Hand der Daten für die Chlorophyllsynthese erkennen, denn auch bei geringer Photosyntheseleistung kommt es zu einer ständigen Neubildung von Chlorophyll. Da eine Chlorophyllsynthese aber nur in Verbindung mit einer Chloroplastenproteinsynthese erfolgen kann (vergl. Kap. III. 3.3.), muß auch eine ständige Proteinsynthese vorhanden gewesen sein. Da die für die Chlorophyllsynthese erforderlichen Enzyme zu einem großen Teil aus Protein bestehen, stützen sie ebenfalls die Annahme einer Proteinsynthese während dieses physiologischen Zustandes der Zellen.

Die von SCHLESSINGER et al. aufgestellte Forderung nach einer fortlaufenden Proteinsynthese bei einem „Protein-breakdown“ ist demnach auch durch die von mir untersuchte *Merinosphaera* erfüllt.

2.3. Im Bereich mittlerer Photosyntheseleistung hält sich der Proteinaufbau mit dem -abbau die Waage. In dieser Phase ist die Zelle in der Lage, ihren Aminosäurestoffwechsel ohne Benutzung der „Reserveproteine“ aufrecht zu erhalten. Der Punkt, an dem eine positive Proteinbilanz vorhanden ist, deckt sich ausgezeichnet mit dem, an dem die

stärkere Chlorophyllsyntheserate einsetzt. Die Möglichkeit, „Reserveproteine“ zu synthetisieren, benutzt die Zelle offensichtlich ebenfalls zu einer verstärkten Chloroplastenbildung.

In dieser Phase des „steady states“ sind schon geringe Änderungen in der Assimilationsleistung der Phytoplankter entscheidend für ihren Proteingehalt. Enzymaktivitäten und -konzentrationen, die auch nur knapp unterhalb des in Kap. III.1. besprochenen Wendepunktes liegen, führen zu einer kontinuierlichen Verminderung des Proteinanteiles der Zellen. Eine geringfügige Erhöhung der Bruttphotosyntheseleistung ergibt aber bereits eine ständige Proteinzunahme in den Organismen.

Dieser „Wendepunkt“ ist entscheidend für den Stoffhaushalt der Kulturorganismen. Wie in den folgenden Kapiteln ausgeführt, wird oberhalb dieses Punktes die Stickstoffaufnahme intensiviert; die Neubildung von Nucleinsäuren ist gleichfalls verstärkt.

3.1. Veränderungen der Nucleinsäuresyntheserate bei verschiedener Bruttoproduktion.

In Abbildung 8 zeigt sich eine nahezu lineare Abhängigkeit der Nucleinsäuresyntheserate von der Bruttoproduktion. Sie beginnt offensichtlich an der Stelle, an der eine positive Nettoproduktion vorhanden ist, also die Bruttoproduktion gegenüber der Respiration überwiegt. Eine lineare Abhängigkeit zwischen der Bruttoproduktion und der Nucleinsäuresyntheserate ist nicht unerwartet, da die Nucleinsäuren als Träger und Überträger genetischer Information fungieren. Eine verstärkte Neubildung von Nucleinsäuren, ähnlich der des Chlorophylls und Eiweißes, bei optimaler Photosyntheseleistung erfolgt allerdings nicht. Nach SINGER & BISHOP (1966) werden Nucleinsäuren durch einen lichtabhängigen, aber nicht photosynthetischen Prozeß gebildet. Als lichtempfindliche Rezeptoren vermuten die genannten Autoren die Karotinoide. Die Ribosomen werden durch einen photosyntheseabhängigen Prozeß gebildet. Sie sind die Orte der Proteinsynthese und bestehen zu 60% aus Ribonucleinsäuren (KONINGSBERGER 1967, p. 77). Schon aus diesem Grunde ist für die Raten der Gesamtnucleinsäuren eine gute Korrelation mit der Bruttphotosyntheseleistung zu erwarten. Die nur geringfügige Steigerung der Nucleinsäuresyntheseraten bei hoher Bruttoproduktion und damit verbundener optimaler Proteinsynthese ist auf die Matrizenfunktion der Nucleinsäuren bei der Proteinsynthese zurückzuführen.

4. Die Änderungen der Syntheseraten der gemessenen organischen Komponenten und ihr Verhältnis zueinander

4.1. Das Verhältnis von Nucleinsäuresynthese zum Proteinstoffwechsel

Wie schon im vorherigen Teil ausgeführt, besteht zwischen der Bruttoproduktion von Sauerstoff und der Nucleinsäuresynthese ein fast lineares Verhältnis. Da die Änderungen des Proteingehaltes sich aber nicht linear zur Bruttoproduktion verhalten, ist auch in Abbildung 9 keine lineare Beziehung zu erwarten.

Obwohl im „unteren Bereich“ der Kurve ein Abbau von Proteinen zu verzeichnen ist, findet eine Synthese von Nucleinsäuren statt. Eine solche Synthese, verbunden mit einem Proteinabbau, ist aber bislang nicht zu erklären. Es muß also gleichzeitig mit der Bildung von Nucleinsäuren eine durch Nucleinsäuren induzierte Synthese von Proteinen stattfinden. WERNER (1965) findet bei Mangelkulturen von *Cyclotella* auch dann eine weitere Synthese von Nucleinsäuren, wenn die Summe der Proteine aus Auf- und Abbau konstant bleibt. Das als normal bezeichnete Verhältnis RNS : Protein von 10 : 100 ändert sich bei Silikatmangel auf 1,5 : 100. Ein gegenüber dem Protein relativ hoher Gehalt von Nucleinsäuren deutet daher auf nicht optimale Lebensbedingungen für den Organismus, d. h. auf einen schlechten physiologischen Zustand, hin.

Nach heutigen Erkenntnissen findet die peptidische Verknüpfung von Aminosäuren ein Hauptschritt der Proteinsynthese, an Ribosomen statt, nachdem die Aminosäuren durch spezifische Enzyme aktiviert und von löslichen Nucleinsäuren auf die Ribosomen übertragen wurden.

BOVE & RACKE (1959) und LYTTLETON (1962) haben aminosäureaktivierende Enzyme und Ribosomen in Chloroplasten nachgewiesen. Die schon in Kapitel III.2.2. erwähnte Neubildung von Proteinen durch Plastiden in Verbindung mit der Chlorophyllsynthese findet ihre Bestätigung durch Untersuchung von HEBER (1962). Aus seinen mit ^{14}C durchgeführten Versuchen geht zweifelsfrei hervor, daß die Chloroplasten zur Proteinsynthese befähigt sind und einen beträchtlichen Teil zur Gesamtproteinsynthese der Zellen beitragen. Dem Abbau von Proteinen steht daher ein ständiger Aufbau entgegen, sobald eine Nucleinsäuresynthese vorhanden ist. In neueren Arbeiten von BRAWERMAN & EISENSTADT (1964), CLARK (1964), EDELMANN et al. (1964), GOFFEAU & BRACHET (1965) und SISSAKIAN et al. (1965) wurde die Möglichkeit der autonomen Proteinsynthese durch Chloroplasten ebenfalls hervorgehoben.

Im Bereich der Kurve, in dem eine positive Bilanz des Proteinstoffwechsels angezeigt wird, steigt die Nucleinsäuresyntheserate nur noch langsam an. Es wird also mehr Protein pro Einheit Nucleinsäuren gebildet. Eine Proteinsynthese muß wohl nicht mit einer starken Zunahme der Nucleinsäuregehalte in Zusammenhang stehen. JEENER (1952) hat solche Beobachtungen an *Polytomella cocea* gemacht, und RICHTER (1959) hat Ähnliches über kernlose *Acetabularien* geschrieben. Befunde gleicher Art liegen vor von JORDAN & INNISS (1959) an *Staphylococcus aureus* und von WOLLGIEHN (1960) an reifenden Samen.

Eine Erklärung, warum die Nucleinsäuresyntheserate nicht direkt proportional mit der Proteinsynthese anwachsen muß, liegt in der Matrizenfunktion der Nucleinsäuren bei der Proteinsynthese. Die Ribosomen werden durch Nucleinsäuren aktiviert und nachdem sich die Aminosäuren durch die Information der Nucleinsäurematritze in der vorgeschriebenen Reihenfolge angeordnet haben, erfolgt die Peptidbindung unter Energieverbrauch und Mitwirkung von Enzymen. Der fertige Proteinstrang wird von der Matritze gelöst, und die gleiche Matritze steht zur Bildung weiterer Proteinmoleküle zur Verfügung. Auf Grund dieser Funktion ist es verständlich, daß eine intensive Proteinbildung nicht eine im gleichen Maße steigende Nucleinsäureproduktion erfordert.

4.2. Das Verhältnis der Nucleinsäuresyntheseraten zur Chlorophyllsynthese

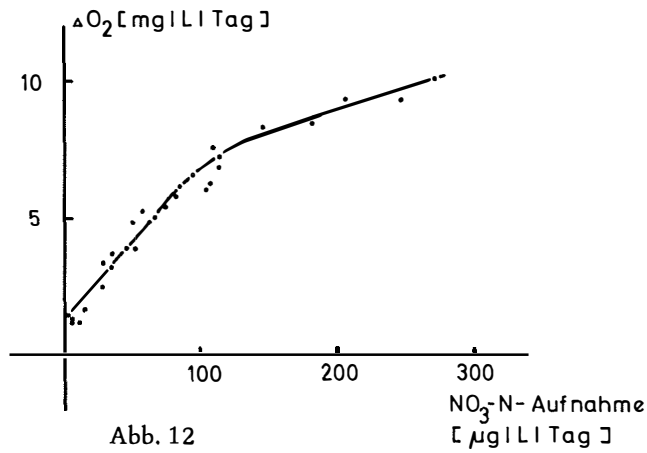
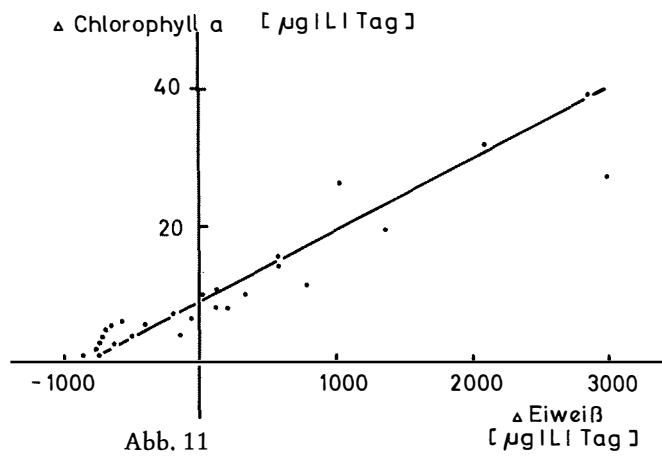
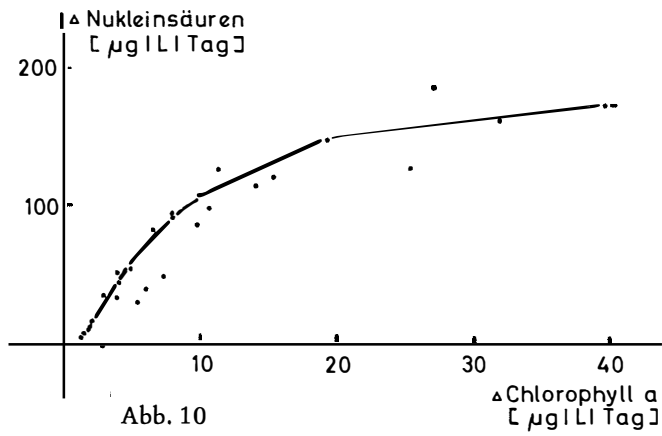
Die Beziehung zwischen der Nucleinsäuresynthese und der Chlorophyllsynthese ist ebenfalls nicht linear (Abbildung 10). Schon bei einer relativ geringen Chlorophyllsynthese erfolgt eine beachtliche Neubildung von Nucleinsäuren. Dieses Ergebnis steht in Einklang mit denen, die SHUGARMAN & APPLEMAN (1966) an *Chlorella*-Kulturen ermittelten. Bei anwachsenden Chlorophyllsyntheseraten steigt die Neubildung von Nucleinsäuren nur in geringem Umfange. Diese dürfte, wie schon in den vorherigen Ausführungen erläutert, auf die Funktion der Nucleinsäuren bei der Bildung von Chloro-

Legende zu den nebenstehenden Abbildungen (Tafel 5)

Abb. 10: Nucleinsäuresyntheseraten verglichen mit der Chlorophyllsynthese

Abb. 11: Proteinstoffwechsel bei verschiedenen Chlorophyllsyntheseraten

Abb. 12: $\text{NO}_3\text{-N}$ -Aufnahme durch die Organismen bei verschiedener Bruttoproduktion



Tafel 5 (zu M. Matteredne)

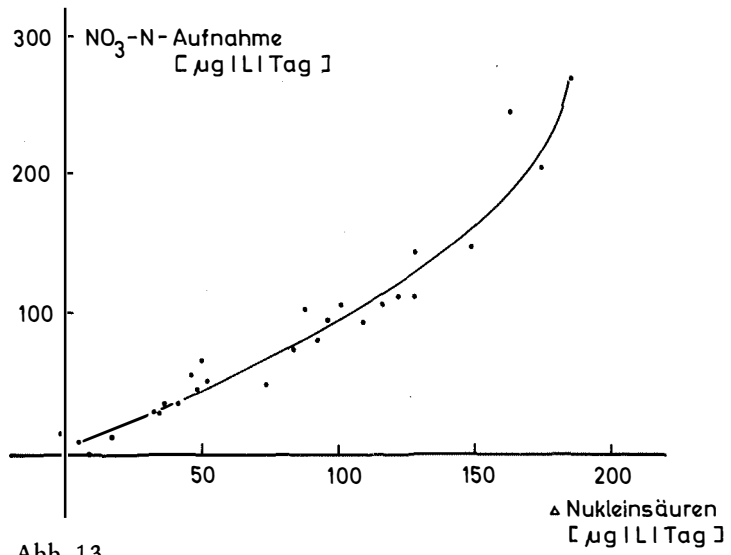


Abb. 13

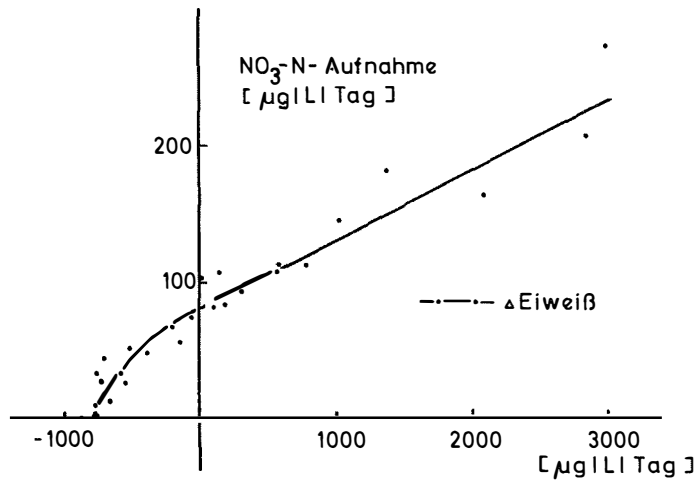


Abb. 14

plastenproteinen zurückzuführen sein. Daher ist bei der Chloroplastenformation eine wesentlich vergrößerte Nukleinsäuresyntheserate nicht zu erwarten. Der Anteil der in den Chloroplasten lokalisierten Nukleinsäuren ist mit etwa 25% bis 30% der Gesamt-RNS der Zelle relativ gering (HEBER 1959). Schon aus diesem Grunde erfordert die Bildung neuer Chloroplasten nur eine minimale Steigerung der Nukleinsäuresyntheseraten.

4.3. Proteinstoffwechsel bei verschiedener Chlorophyllsyntheserate

In Abbildung 11 wurden die Raten der Chlorophyllsynthese und des Proteinaufbaus bzw. -abbaus gegeneinander aufgetragen.

Es ist verständlich, daß eine lineare Abhängigkeit bestehen kann, da der Hauptteil der Proteine in den Chloroplasten lokalisiert ist. Somit muß sich eine Steigerung des Chloroplastenanteiles in gleicher Weise auf den Proteingehalt und die Chlorophyllkonzentration der Zellen auswirken. Nach HEBER (1963) beträgt der Anteil der Chloroplastenfraktion am Gesamtproteingehalt etwa 65% bis 75%. BERGFELD gibt in Arbeiten von 1963 und 1964 an, daß ein wesentlicher Teil des gebildeten Proteins sich in den Chloroplasten befindet. Es handelt sich hierbei bevorzugt um Strukturproteine, während im Cytoplasma mit der Synthese spezifischer Enzyme gerechnet wird. Da die Enzyme zu einer Stoffgruppe gehören, die in geringsten Konzentrationen die Reaktionen in der Zelle katalysieren, ist die in ihnen enthaltene Proteinmenge gering gegenüber dem in den Strukturen vorkommenden Proteingehalt.

KASEMIR & MOHR (1965) führen die Steigerung des Chlorophyllgehaltes ebenfalls in erster Linie auf die verstärkte Bildung von Chloroplastenproteinen zurück. Sie erhalten eine lineare Abhängigkeit des Chlorophyllgehaltes von der der Gesamtmenge Protein, jeweils bezogen auf das Trockengewicht. Gleichfalls lineare Abhängigkeit zwischen diesen beiden Stoffen beschreibt BÖGER (1964) an Versuchen mit *Chlorella vulgaris*, *C. pyrenoidosa*, *Chlamydomonas reinhardi* und *Scenedesmus obliquus*.

Nach den Angaben in Tabelle 1 verhält sich bei niedrigen Chlorophyllkonzentrationen pro Trockengewicht das Protein zum Chlorophyll wie 63 zu 1. Erst bei einem Chlorophyllanteil von 2% erhalten die genannten Autoren den gebräuchlichen Faktor 10.

Tabelle 1
Das Verhältnis der Chlorophyllkonzentration zum Proteinanteil
(Daten nach KASEMIR & MOHR 1965)

% Chlorophyll pro Trockengewicht	% Protein -N- pro Trockengewicht	Protein pro Chlorophyll
0,3	0,1	63 : 1
0,6	0,2	32 : 1
0,9	0,3	21 : 1
1,3	0,4	16 : 1
1,8	0,5	12 : 1
2,2	0,6	8 : 1

Legende zu den nebenstehenden Abbildungen (Tafel 6)

Abb. 13: Nitratstickstoffaufnahme bei verschiedener Nukleinsäuresyntheserate

Abb. 14: Proteinstoffwechsel bei verschiedener Nitratstickstoffaufnahme

In Abbildung 11 ist zu erkennen, daß sich die lineare Beziehung auch erhält, wenn ein Proteinabbau erfolgt. Dieser Umstand ist nur dann nicht widersprüchlich, sobald man sich vergegenwärtigt, daß ein Proteinabbau nur dann möglich ist, wenn damit verbunden sich gleichzeitig ein Proteinaufbau vollzieht (Vergl. Kap. III.2.2.)

Je geringer die Proteinsynthese wird, desto mehr verringert sich auch die Abbau-geschwindigkeit der Proteine. Daraus ergibt sich, daß trotz des Proteinabbaus die Proteinsynthese linear mit dem gleichzeitig stattfindenden Proteinaufbau korreliert ist. Da ein Abbau des Chlorophylls unter den beschriebenen Versuchsbedingungen nicht festgestellt wurde, muß sich demnach der überwiegende Teil des neugebildeten Proteins in den Chloroplasten befunden haben.

Der Abbau des Proteins im Bereiche geringer Photosyntheseleistung ist also mit Reserveproteinen durchgeführt worden. Es erscheint unwahrscheinlich, daß sich diese Reserven im Cytoplasma befunden haben. Vielmehr muß die Zelle in der Lage sein, aus den Proteinen, welche sich im Chloroplastensystem befinden, Aminosäuren zurück-zubilden. Es ist möglich, daß Reserveproteine, ebenso wie Stärke, in den Chloroplasten als Reservestoffe abgelagert werden. Eine sichere Aussage läßt sich auf Grund der hier durchgeführten Untersuchungen jedoch nicht machen.

Daß die Chlorophyllsynthese grundsätzlich später gehemmt wird als die Protein-synthese, ist aus Angaben von WERNER (1965) zu entnehmen. Eine Verschlechterung der Lebensbedingungen für die Organismen führt nach seinen Angaben zu einer starken Erhöhung des Chlorophyllgehaltes gegenüber dem Proteingehalt.

Die durchgeführten Versuche bestätigen diese Angabe; bei geringer Photosyntheseleistung, d. h. schlechtem physiologischem Zustand der Organismen, war bei gleich-zeitigem Proteinabbau noch eine Chlorophyllsynthese zu beobachten.

5. Stickstoffhaushalt der untersuchten Organismen

5.1. Nitratstickstoffaufnahme bei verschiedener Bruttoproduktion

Alle chlorophyllhaltigen Algen, von einigen Ausnahmen abgesehen, können offen-sichtlich sowohl Nitrate als auch Ammonium als Stickstoffquelle benutzen (SYRETT 1962 in LEWIN, *Physiology and Biochemistry of Algae*). Da mit den zur Zeit zur Verfügung ste-henden Analysemethoden nur Nitrat und Nitrit mit ausreichender Genauigkeit bestimmt werden können, wurde in den durchgeführten Untersuchungen auf die Analyse des Ammo-niaks verzichtet. Die Aufnahme von Nitrat setzt erst bei einer Bruttoproduktion von etwa 1 mg O₂/L und Tag ein (Abb.: 12). Dieses ist wahrscheinlich die Stelle an der die Respiration kleiner ist als die Bruttoproduktion, wo es also zu einer positiven Photo-synthese kommt. Im Bereich geringer Assimilationsleistung, in dem der Abbau von Proteinen stärker ist als der Aufbau, erfolgt linear zur Bruttoproduktion die Aufnahme von Nitrat. Da die Nukleinsäuresyntheserate ebenfalls linear zur Bruttoproduktion verläuft, scheint der aufgenommene NO₃-Stickstoff für die Synthese von Nukleinsäuren gebraucht zu werden. Sobald eine positive Bilanz im Proteinhaushalt der Organis-men eintritt, verstärkt sich die Aufnahme von Nitrat. Es wird wesentlich mehr Nitrat als bei geringer Photosyntheseleistung eingebaut, aber die Beziehung zur Bruttoproduk-tion ist weiterhin linear. Die Bildung von Reserveproteinen macht sich durch eine starke Aufnahme von Nitraten bemerkbar, allerdings reichen sie nicht als Stickstoff-quelle aus, wie in den folgenden Abschnitten erläutert wird.

5.2. Stickstoffhaushalt des Kulturorganismus

1. Nitrat-Stickstoffaufnahme bei verschiedenen Raten der Nukleinsäuresynthese und des Proteinaufbaus bzw. -abbaus

In den Abbildungen 13 und 14 werden die im vorigen Kapitel erwähnten Vorgänge verdeutlicht.

Die Beziehung zwischen der Nitrataufnahme und der Nukleinsäuresyntheserate kann folgendermaßen interpretiert werden. Solange nur eine geringe Nitrataufnahme erfolgt, verhält sich die Nukleinsäuresynthese linear zur Nitrataufnahme. Erst bei steigendem Nitrataufbau verringert sich die Menge der produzierten Nukleinsäuren relativ zur Nitrataufnahme. Bei Assimilation kleiner Nitratmengen wird die zur Verfügung stehende Stickstoffkonzentration zur Nukleinsäuresynthese verwendet.

Sobald eine positive Bilanz des Proteinstoffwechsels auftritt, reicht das Nitrat alleine als Stickstoffquelle für die Nukleinsäure- und Eiweißsynthese nicht mehr aus. Die neben dem Proteinabbau erfolgende Proteinsynthese scheint sowohl mit dem zuviel aufgenommenen NO_3 -Stickstoff als auch mit den freiwerdenden Aminosäuren durchgeführt zu werden. Übersichtlicher wird der Stickstoffhaushalt in Abbildung 15, wo die in den Proteinen und Nukleinsäuren enthaltene Stickstoffmenge berechnet wurde und in Relation mit der NO_3 -N-Aufnahme gezeigt ist.

Die Berechnung der Stickstoffgehalte erfolgte nach dem Ansatz, daß die Proteine zu 17% und die Nukleinsäuren zu 15% aus Stickstoff bestehen. Es zeigt sich, daß bei negativer Proteinbilanz, vor allem bei geringer Bruttoproduktion, ein relativ stärkerer Einbau von Nitrat erfolgt als bei positiver Proteinbilanz. Die in Abbildung 15 gestrichelt eingezeichnete Linie stellt die Bedingungen dar, wenn der in den Nukleinsäuren und Proteinen enthaltene Stickstoff ausschließlich aus den aufgenommenen Nitraten stammen würde. Es zeigen sich beachtliche Abweichungen.

Da bei intensiver Photosyntheseleistung relativ wenig Nitrat eingebaut wird, muß die entstehende Differenz durch andere Stickstoffquellen ausgeglichen werden. Als solche kommt bei den Kulturexperimenten NO_2 -N nicht in Betracht, da es nur in geringen Konzentrationen (kleiner als $1\mu\text{g}$ pro Liter) oder nicht nachweisbar vorhanden war. Es bleiben nur noch NH_3 -N- oder organische Stickstoffverbindungen übrig. Wahrscheinlich ist der nicht bestimmte NH_3 -N- die entscheidende Quelle gewesen, zumal BONGERS (1956) gerade bei geringen Lichtintensitäten mit einer Versorgung durch NH_3 -N- als Stickstoffquelle eine bessere Syntheseleistung der Zellen erzielte als mit Nitraten. Der entstehende Stickstoffüberschuß in der Phase negativer Proteinbilanz dürfte in den nicht bestimmten Aminosäuren vorhanden gewesen sein. Es ist nicht auszuschließen, daß die Zellen in diesem Zustand geringer Assimilationsleistung organische Stickstoffverbindungen an das Außenmedium abgeben.

IV.

1. Verhalten der Syntheseraten einzelner organischer Komponenten bei sich ändernder Assimilationsaktivität

Die in den verschiedenen Phasen phototrophen Wachstums ermittelten Syntheseraten und die Relationen dieser Raten zueinander sollen zur Erklärung von den in situ ablaufenden Vorgängen benutzt und auf ihre Anwendbarkeit überprüft werden. Wenn in den folgenden Ausführungen von einer Phytoplanktonpopulation gesprochen wird, so verstehe man darunter eine Population, die sich in ihrer Assimilationsaktivität und den Änderungen der Syntheseraten einzelner organischer Verbindungen so verhält wie die untersuchte Art. Da die assimilationsbedingten Reaktionsabläufe bei phototrophen Organismen aber im wesentlichen gleich sind, ist anzunehmen, daß sich die Phytoplankter, die in unseren Gebieten die „Frühjahrsblüte“ bilden, so oder ähnlich verhalten wie die untersuchte Art, wenn auch die absoluten Konzentrationen der organischen Komponenten von Art zu Art verschieden sein dürften.

Zum besseren Verständnis sollen die drei verschiedenen Phasen der Assimilationsaktivität getrennt dargestellt werden.

1.1. In der Phase maximaler Photosyntheseleistung findet eine Synthese von Assimilationspigmenten, Proteinen und Nukleinsäuren statt. Die absolute Höhe der Syntheseraten ist allerdings recht unterschiedlich. Betrachtet man den Quotienten des Proteingehaltes mit dem Chlorophyll, so stellt man fest, daß, da beide Gehalte sich verschieden stark vermehren, der Wert des Quotienten mit steigender Assimilationsleistung größer wird (Tabelle 2). Ein steigender Quotient dürfte demnach auch insitu eine gut wachsende Population anzeigen. Die absolute Höhe des Quotienten wird allerdings je nach der Artenzusammensetzung einer Population variabel sein.

Tabelle 2

Konzentrationen des Chlorophylls, der Proteine und Nukleinsäuren bei verschiedener Assimilationsleistung über 7 Tage und die mögliche Änderung der Höhe der Quotienten

O ₂ Abg. (mg)	Prot. (µg)	Nukls. (µg)	Chl. a (µg)	Prot. Chl. a	Nukls. Prot.	Chl. a Nukls.
0,98	2 120	1 242	92,8	22,8	0,58	0,07
1,96	2 820	1 312	98,4	28,6	0,47	0,07
2,94	3 380	1 396	111,0	30,5	0,41	0,08
3,93	4 500	1 466	118,0	38,1	0,33	0,08
4,91	5 900	1 578	132,0	44,7	0,27	0,08
5,89	8 000	1 718	148,8	53,8	0,21	0,09
6,87	10 940	1 872	182,4	60,0	0,17	0,10
7,86	15 080	2 064	228,6	66,0	0,14	0,11
8,84	22 840	2 268	300,0	76,1	0,10	0,13
9,82	31 100	2 586	388,2	80,1	0,08	0,15

Ausgangsquotienten: Protein : Chl. a = 88,9
 Nukls. : Prot. = 0,15
 Chl. a : Nukls. = 0,08

Auch bei den Berechnungen fällt auf, daß bei anhaltend hoher Assimilationsleistung der Quotient Protein zu Chlorophyll langsam kleiner wird. Das „Abfallen“ der Quotienten bei fortlaufend hoher Produktion kann gleichfalls auch insitu beobachtet werden. In der Dissertation von HICKEL (1966) sind Angaben enthalten, die, in Quotienten umgerechnet, diese Angaben bestätigen (Abb. 16). Am 1. März und am 2. März steigt der Quotient steil an, wird an den folgenden Tagen aber nur geringfügig größer bzw. verringert sich. Ähnliches gilt auch für die weiteren Beispiele vom 5. März bis 7. März und 17. März bis 19. März.

Die Konzentration der Nukleinsäuren steigt ebenfalls in der Phase maximaler Photosynthese an, eine starke Proteinsynthese verringert allerdings die Höhe der Quotienten. Da diese Änderungen sowohl zwischen den einzelnen Assimilationsleistungen als auch nach einer Woche die gleiche Tendenz aufweisen, kann man daraus schließen, daß ein kleiner Quotient Nukleinsäuren zu Protein ein optimales Wachstum der Organismen anzeigt.

Wie sich allerdings der Quotient verhält, wenn Nukleinsäuren in der Zelle abgebaut werden, so z. B. wenn keine positive Assimilation mehr stattfindet, läßt sich aus den Ergebnissen der durchgeführten Untersuchungen nicht ableiten. Eine ebenfalls auftretende Verkleinerung des Quotienten wäre nicht widersprüchlich, da unter diesen Bedingungen ein Proteinabbau in der Zelle nicht, oder nur in ganz geringem Umfange eintritt. Da insitu jedoch auch noch ein Abbau von Proteinen außerhalb der Zelle,

durch z. B. bakteriellen Abbau, auftritt, dürfte die Aussagekraft des Quotienten bei Abbauvorgängen in der Planktonpopulation begrenzt sein. Der Quotient Chlorophyll zu Nukleinsäuren vergrößert sich mit steigender Produktion, bedingt durch die relativ stärkere Chlorophyllsyntheserate. Da die Proteine gewichtsmäßig einen großen Anteil der Zelle bilden, wäre ein geringer Chlorophyllgehalt pro Einheit der organischen Substanz oder des Trockengewichts ebenfalls repräsentativ für gute Wachstumsbedingungen in der Zelle.

Da die Bestimmung des Trockengewichts an Planktonproben in situ und die folgende Umrechnung auf die organische Substanz mit großen Fehlern behaftet ist, z. B. durch den hohen und nicht konstanten Gehalt anorganischen Detritus im Wasser, erscheint dieses Verfahren jedoch nur bedingt anwendbar. Das Eiweiß als Berechnungsgrundlage zu wählen, dürfte für die Ermittlung der Produktionsmöglichkeit einer Phytoplanktonpopulation ausreichend und wesentlich genauer sein, als die Trockengewichte zu benutzen.

1.2. In der Phase minimaler Lebensbedingungen, wie sie insitu durch schlechte Lichtversorgung oder Mangel an Nährstoffen hervorgerufen werden können, sind die Anteile einzelner Komponenten der organischen Substanz großen Schwankungen unterworfen. Voraussetzung für die hier angestellten Überlegungen ist allerdings, daß die Lebensbedingungen sich nicht so stark verschlechtern, daß keine positive Assimilation mehr möglich ist. Befindet sich eine Population unter Bedingungen, wo sie noch eine geringe Assimilation durchführen kann, dann steigt der Chlorophyllgehalt zwar noch an, aber die Gesamtmenge der Proteine verringert sich. Während sich der Quotient Chlorophyll zu Nukleinsäuren noch mäßig vergrößert, verkleinert sich das Verhältnis der Proteine zum Chlorophyll erheblich. Ein steigender Chlorophyllgehalt pro Einheit Protein spricht daher für eine Verschlechterung der Assimilationsleistung der Population. Eine Verringerung der organischen Substanz und des Trockengewichts, bedingt durch die Abnahme des Proteingehaltes, ist zu erwarten.

1.3. In dem Bereich mittlerer Photosyntheseleistung, in der sich die Phytoplankter der euphoten Zone die längste Zeit befinden dürften, sind die Syntheseraten einzelner organischer Komponenten relativ ausgeglichen. Der absolute Gehalt an Nukleinsäuren und Chlorophyll erhöht sich, die Quotienten sind jedoch relativ konstant gegenüber denen der extremen Bedingungen.

Sobald eine positive Proteinbilanz vorhanden ist, nähert sich der Quotient Eiweiß zu Chlorophyll den hohen Werten bei optimalen Wachstumsbedingungen. Unterhalb der positiven Proteinbilanz nimmt der Proteinabbau nicht in dem gleichen Maße zu, wie oberhalb die Proteinsyntheseraten. Im Bereiche geringer werdender Photosyntheseleistung verbraucht die Zelle demnach nur wenig von ihren „Reserveproteinen“. BRAND, RAKESTRAW & RENN (1937) cit. n. GESSNER, Hydrobotanik II, stellten fest, daß der Abbau der organischen Stickstoffverbindungen bei Diatomeenplankton, welches mehrere Monate im Dunkeln stehen lassen wurde, über NH_4 zu NO_2 und NO_3 erfolgt. „Hervorzuheben ist jedoch, daß ein großer Teil des geformten Stickstoffs sich der Remineralisation widersetzt.“ KRAUSS (1956) cit. n. STRICKLAND (1960) gibt an, daß *Skenedesmus*-Zellen den Proteinstickstoff festhalten, sogar nach einer Dunkelperiode von mehreren Wochen. Möglicherweise werden durch diesen Vorgang Zellen begünstigt, die, nachdem sie z. B. in tiefere Wasserschichten abgedrängt, nur geringe Assimilationsleistung aufweisen, ihren Proteinabbau reduzieren und damit ihren Proteingehalt über längere Zeit annähernd konstant halten können. Sobald sie nach einiger Zeit wieder in die euphote Zone unter günstige Umweltbedingungen gelangen, können sie sofort eine positive Assimilation unter Benutzung der Reserveproteine aufnehmen.

Eine Hemmung des Proteinabbaus, wenn die Zellen zu keiner positiven Assimilation mehr in der Lage sind, bringt somit erhöhte Überlebenschancen für diese Organismen mit sich.

2. Überprüfung der Vergleichbarkeit der invitro erhaltenen Ergebnisse bei den insitu Ergebnissen anderer Autoren.

Nach veröffentlichten Analysen aus Netzfängen, zusammengefaßt bei HAGMEIER (1961), ergibt sich folgende chemische Zusammensetzung des Phytoplanktons:

Tabelle 3

% Kohlenstoff in der organischen Substanz	
Diatomeen	55,3 (40,4—55,0)
Peridineen	47,7 (39,4—50,4)
Mittelwert: etwa	50% Kohlenstoff sind in der organischen Substanz vorhanden
% Stickstoff in der organischen Substanz	
Diatomeen	7,3 (2,2—12,9)
Peridineen	7,0 (3,0—11,9)
Mittelwert: etwa	7% Stickstoff sind in der organischen Substanz vorhanden

Die Angaben in den Klammern entsprechen den gemessenen Extremwerten.

Während der Kohlenstoffgehalt der Organismen relativ konstant ist, fällt bei den Stickstoffwerten eine Streubreite von 85% um den Mittelwert auf. Diese Schwankungen deuten auf den sich ändernden Proteingehalt der Zelle, je nach physiologischem Zustand, hin.

Es sollte nun festgestellt werden, in wieweit die Produktion der untersuchten Art mit den von anderen Autoren gemachten Angaben übereinstimmt. Der mittlere Stickstoffgehalt einer Phytoplanktonpopulation ergibt mit 6,25 multipliziert (nach STRICKLAND 1960) den Proteingehalt. Nach der Elementaranalyse besitzen die Proteine einen Kohlenstoffgehalt von 50% (RÖMPP, Chemie Lexikon, 1962). Die in den Versuchen ermittelte Proteinmenge konnte halbiert als Kohlenstoff eingesetzt werden. Durch Subtraktion des Proteinkohlenstoffs von dem Gesamtkohlenstoff der Phytoplankter, der ebenfalls mit 50% (HAGMEIER 1961) angegeben wird, erhält man die nicht im Protein vorhandene Kohlenstoffmenge. Über den ermittelten Proteingehalt erfolgte die Umrechnung auf die durch die Kulturorganismen aufgenommene Kohlenstoffkonzentration. Bei optimalen Bedingungen wurden 3000 µg Eiweiß synthetisiert. Die Sauerstoffabgabe betrug dabei etwa 10 mg O₂.

Legende zu den nebenstehenden Abbildungen (Tafel 7)

Abb. 15: Nitrataufnahme verglichen mit der Produktion organisch gebundenen Stickstoffs (Organischer Stickstoff als die in Nukleinsäuren und Proteinen enthaltenen N-Konzentration. Aminosäuren blieben unberücksichtigt)

Abb. 16: Hydrographische Bedingungen in den ersten Märzwochen und die sich daraus ergebenden Änderungen der Quotienten Eiweiß : Chlorophyll (Daten umgerechnet nach Angaben von HICKEL 1966)

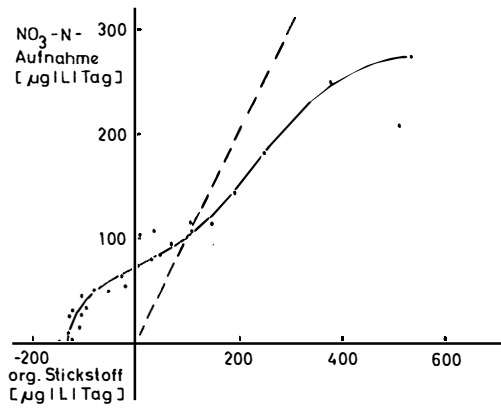


Abb. 15

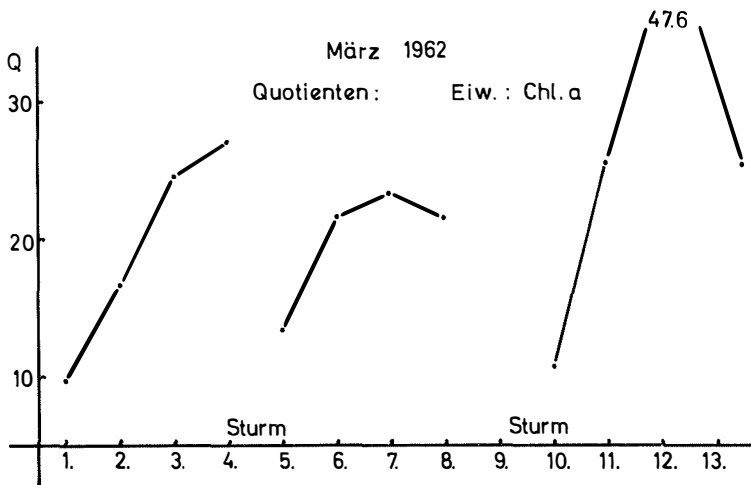


Abb. 16

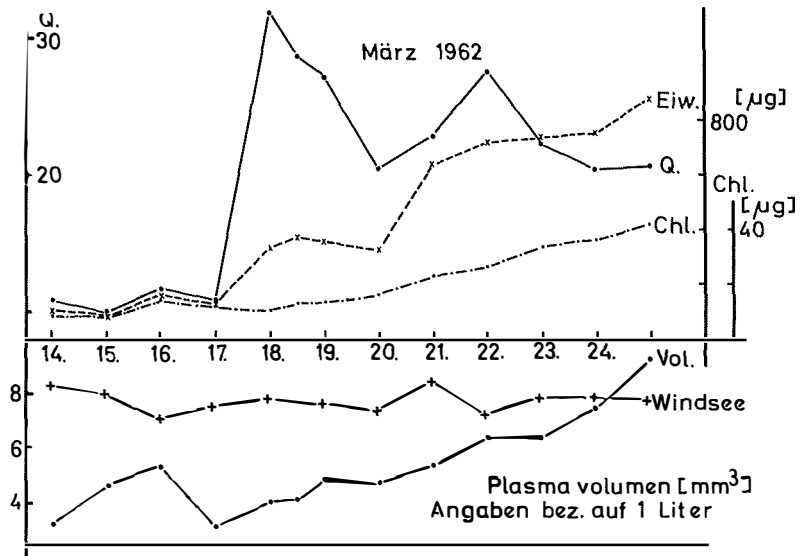


Abb. 17

$$\begin{array}{rcl} 3\,000 \mu\text{g Protein} & \dots & = 1\,500 \mu\text{g Protein} - \text{C} \\ 1\,500 \mu\text{g Protein} - \text{C} & \dots & = 1\,900 \mu\text{g nicht Protein} - \text{C} \end{array}$$

Es erfolgte eine Aufnahme von 3 400 μg Kohlenstoff

Die abgegebene Sauerstoffkonzentration entspricht einer Kohlenstoffaufnahme von 3,070 mg C, wenn ein Photosynthesequotient von 1,2 (STRICKLAND 1960) zugrunde gelegt wird. Bei überwiegender NH_4 -Assimilation, wie sie in den Versuchen bei optimaler Aktivität angenommen werden muß, wird zur Berechnung des assimilierten Kohlenstoffs ein PQ von 1,05 als korrekt angegeben (STRICKLAND 1960).

Danach ergibt sich bei Sauerstoffabgabe von 9,82 mg O_2 pro Liter und Tag eine Kohlenstoffassimilation von 3,510 mg pro Liter und Tag. Im Bereich optimaler Photosyntheseleistung stimmen die über den Proteingehalt mit 3,4 mg C und über die Sauerstoffabgabe mit 3,07 bzw. 3,51 mg C berechneten Kohlenstoffaufnahmen überein.

Bei den hier durchgeführten Berechnungen wurde ein Proteingehalt von 44% der organischen Substanz angenommen. Da erst bei optimaler Assimilationsleistung die Proteinsynthese mit der Kohlenstoffaufnahme in Einklang steht, und es bei geringerer Photosynthese noch zu einer Abnahme des Proteingehaltes kommt, erscheinen mir die vom COMMITTEE ON TERMS AND EQUIVALENTS (1958) angegebenen Proteingehalte von 55% der organischen Substanz als zu hoch, zumindest was die Proteingehalte von *Meringosphaera* anbelangt. Unter der Annahme, daß die bei dem untersuchten Objekt erhaltenen Syntheseraten auf andere Populationen übertragen werden dürfen, und daß sich optimale Bedingungen nicht über lange Zeiträume erhalten können, erscheinen mir die von KREY cit. nach HAGMEIER (1961) angegebenen Proteingehalte von 20,4% für Diatomeen und 21,8% für Peridineen als wesentlich genauer, wenn auch Mittelwerte von 30% bis 35% den tatsächlichen Verhältnissen am nächsten kommen dürften.

Bei maximaler Photosyntheseleistung wurde für die untersuchte Art eine Zunahme der organischen Substanz von 6,8 mg errechnet, die mit einer Chlorophyllsynthese von 40 μg verglichen werden kann. Das ergibt einen Chlorophyllanteil von annähernd 0,6% der organischen Substanz. Dieses ist als Minimalwert anzusehen, da es im Bereiche geringerer Assimilation zu einer relativ stärkeren Chlorophyllsynthese kommt. Die bei mittlerer Assimilation erhaltenen Werte decken sich mit den aus der Literatur bekannten, die mit 0,9% bis 2,9% der organischen Substanz angegeben werden. Die Übereinstimmung der Chlorophyll- und Proteingehalte mit den aus der Literatur zu entnehmenden Daten, lassen eine Übertragung der in den Kulturversuchen erhaltenen Ergebnisse auf insitu Bedingungen als gerechtfertigt erscheinen.

3. Erklärung der Wachstumsbedingungen in einer „Frühjahrsblüte“ mit den Ergebnissen der Kulturversuche

HICKEL (1966) berechnet das Trockengewicht organischer Substanz der Phytoplankter aus den Gehalten von Chlorophyll, Eiweiß und Plasmavolumen dadurch, daß er die Werte je mit einem konstanten Faktor multipliziert. Es zeigen sich zum Teil recht erhebliche Unterschiede zwischen den aus den einzelnen Komponenten errechneten Trockengewichten. Im Idealfall, meint HICKEL, müßten sich gleiche Trockengewichte ergeben. Dieser Idealfall wird nur dann eintreten können, wenn sich gleiche

Legende zu den nebenstehenden Abbildungen (Tafel 8)

Abb. 17: Hydrographische Bedingungen der letzten Märzwochen und ihre Auswirkungen auf den Phytoplanktonbestand (Daten umgerechnet nach Angaben von HICKEL)

Phytoplanktonpopulationen die gleiche Zeit unter gleichen Umweltsbedingungen und gleicher Assimilationsaktivität befunden haben. Differenzen im Chlorophyllgehalt zwischen einzelnen Arten, aber auch je nach physiologischem Zustand, wird von HICKEL angegeben. Die letztere Tatsache deckt sich mit den Befunden der vorliegenden Arbeit. Die Umrechnung des Proteingehaltes auf das Trockengewicht erscheint HICKEL die genauesten Ergebnisse zu bringen. Dieses kann nach den Kulturversuchen bestätigt werden, zumal HICKEL über die gesamte Wassersäule mittelte, und sich in den Schichten unterhalb der euphoten Zone die Proteingehalte in der Zelle selbst nicht mehr stark ändern. Die Daten, die von HICKEL übernommen wurden, sind nach dem Vergleich mit den Angaben anderer Autoren gut zu einer genaueren Erklärung der Verhältnisse im freien Wasser geeignet.

HICKEL war es möglich, vom 14. bis 25. März 1962 eine Phytoplanktonpopulation in ihrer Entwicklung verfolgen zu können. Die hydrographischen Daten dieses Zeitraumes zeigen einen konstanten Salzgehalt, die Ausbildung einer Sprungschicht bei etwa 7 Meter. Die Ein- und Ausstromverhältnisse im Untersuchungsgebiet sind so, daß derselbe Wasserkörper sich immer im Bereich der Meßstelle befindet. Im Unterschied zu diesen günstigen Bedingungen sollen auch die in der Zeit vom 1. bis 13. März ablaufenden Vorgänge besprochen werden. In diesem Zeitraum wurde, durch starke Winde bedingt, ständig ein Wasserkörper gegen den anderen ausgetauscht, und eine kontinuierliche Beobachtung einer Population konnte nicht erfolgen. Die zu erwartenden Änderungen der Quotienten Eiweiß zu Chlorophyll wurden nach den Originaldaten berechnet und gegen die Zeit aufgetragen. Die Angaben des Plasmavolumens fehlen in der zitierten Arbeit für die erste Hälfte des Monats und konnten daher in Abbildung 16 nicht berücksichtigt werden.

Der errechnete Quotient Eiweiß zu Chlorophyll steigt vom 1. 3. bis zum 3. 3. stark an (Abb. 16). Eine etwas geringere Zunahme wird am 4. 3. beobachtet. Nach den Kulturversuchen deutet dieses auf ein gutes Wachstum der Population hin. Am 4. 3. tritt ein Sturm auf, der die gesamte Wassersäule durchmischt. Durch diese Vermischung müssen Phytoplankter aus tieferen Schichten mit an die Oberfläche gebracht worden sein. Ihr nicht optimaler physiologischer Zustand induziert einen Abfall der Quotientenhöhen. Sobald sich der Wind legt, beginnt wieder eine lebhaftere Assimilationstätigkeit der Organismen, was sich in einer Erhöhung des Eiweißgehaltes anzeigt.

Am 9. 3. tritt ein besonders starker Sturm auf, und die Eiweißgehalte pro Einheit Chlorophyll steigen innerhalb eines Tages wiederum an. Durch diesen Sturm müssen erhebliche Nährstoffkonzentrationen aus den tieferen Wasserschichten an die Oberfläche gebracht worden sein, denn die Auswirkungen sind direkt in den hohen Plasmavolumenangaben vom 16. März zu erkennen. Der Anstieg der Plasmavolumen (Werte liegen leider nur für die zweite Märzhälfte vor) erfolgt später als der Anstieg der Quotienten (vergl. 17. 3. bis 25. 3. in Abb. 17). Die Änderungen der Lebens- und Wachstumsbedingungen für die Phytoplankter kann man also recht gut aus der Höhe der Quotienten ablesen.

Quotientenbildungen zwischen dem Eiweiß- und dem Chlorophyllgehalt erscheinen allerdings nur bei der „Frühjahrsblüte“ sinnvoll zu sein, da zu dieser Zeit der störende Einfluß von tierischen Proteinen nur gering ist.

Am 14. 3. beginnt sich eine Sprungschicht auszubilden, weil geringe Windstärken vorhanden sind, die sich nicht mehr bis in die Tiefe auswirken. Der Quotient Eiweiß zu Chlorophyll ist niedrig, zeigt also kein gutes Wachstum an (Abb. 17).

Am 17. 3. steigt der Quotient sprunghaft an. Die für die „Frühjahrsblüte“ charakteristische Massenentwicklung setzt ein. Die Werte des Quotienten fallen wieder langsam, deuten durch ihre Höhe aber die immer noch guten Wachstumsbedingungen in der

Population an. Die einsetzende Frühjahrsblüte zeigt sich gleichfalls deutlich in dem Anstieg der Plasmavolumina.

Durch einen Windeinfluß am 20. 3. steigt der Quotient nochmals an. Da der Wind aber, im Gegensatz zur ersten Hälfte des Monats, nicht in der Lage ist, bis in tiefere Wasserschichten zu wirken und die Sprungschicht zu zerstören, werden die Wachstumsbedingungen durch den günstigen Einfluß höherer Turbulenzen verbessert.

Nach diesem Einfluß fallen die Quotientenwerte wieder ab, behalten aber weiterhin die Höhe, die gutes Wachstum anzeigt.

Interessant ist die Tatsache, daß das Steigen und Fallen der Quotientenhöhen sich direkt in der Verringerung oder Vergrößerung des Plasmavolumens ausdrückt (vergl. die Daten vom 19., 20., 22., und 23. März 1962).

Der Chlorophyllgehalt steigt ständig an, was für ein Verbleiben des Wasserkörpers an der Meßstelle und ein Ansteigen der Phytoplanktonkonzentration spricht. Die Bildung von Quotienten läßt somit eindeutig Rückschlüsse auf das Wachstum einer Phytoplanktonpopulation und die in ihr herrschenden physiologischen Bedingungen zu. Die Bildung weiterer Quotienten, wie Chlorophyll zu Nukleinsäuren oder Eiweiß zu Nukleinsäuren, ergäben nach den Ergebnissen der Kulturversuche ebenfalls Aufschlüsse über den physiologischen Zustand des Phytoplanktons und seine Produktionsmöglichkeit.

V. Schluß

An Hand der Kulturversuche konnte gezeigt werden, daß zwischen der Bruttoproduktion und der Synthese von Chlorophyll, Proteinen und Nukleinsäuren keine oder nur geringe lineare Abhängigkeiten bestehen. Um den Bestand quantitativ mit chemischen Methoden zu erfassen, muß der zu analysierende Bestandteil der Phytoplanktonzellen aber in einer engen, möglichst konstanten Beziehung zur organischen Substanz der Organismen stehen oder selbst an der Bildung der Biomasse beteiligt sein (vergl. Kapitel I). Komponenten, die nur einen geringen Anteil an der organischen Substanz der Zellen haben, erscheinen für die Berechnung des Bestandes nur dann geeignet, wenn sie die geforderte konstante Beziehung erfüllen, da sonst durch hohe Umrechnungsfaktoren nur eine mäßige Genauigkeit in der Angabe der „Biomasse“ erreicht werden kann. Diese Bedingung ist beim Chlorophyllgehalt mit Sicherheit nicht erfüllt.

Da die Proteine etwa 30% bis 35% der Zellsubstanz ausmachen, ergibt ihre Konzentration mit dem Faktor 3 multipliziert die organische Substanz mit größerer Genauigkeit an, als es über die anderen Komponenten möglich ist. Auf Grund der starken Protein- auf- und Abbauvorgänge innerhalb der Zelle je nach der Bruttphotosyntheseleistung, muß aber auch dieser Faktor nach dem physiologischen Zustand der Organismen variiert werden. Bei geringer Assimilationsleistung erscheint ein Faktor von 4 oder 5 und bei optimaler Assimilation von 3 oder sogar 2 geeignet.

Durch die Bildung von Quotienten mit einzelnen organischen Zellkomponenten wie z. B. Eiweiß zu Chlorophyll kann der physiologische Zustand einer Phytoplanktonpopulation ermittelt und damit die Größe des Umrechnungsfaktors festgelegt werden.

Es ist jedoch unerlässlich, diese Angaben auf ihre Anwendbarkeit in situ durch lange Meßreihen zu überprüfen, da bei anderen Populationen als man sie in der „Frühjahrsblüte“ antrifft, der im Zooplankton vorhandene Proteinanteil zu groben Fehlschlüssen auf den physiologischen Zustand des Phytoplanktonanteiles führen kann.

Die Biomasse des Phytoplanktons kann man also nicht über eine Verwendung linearer Faktoren erfassen, sondern nur, wenn man die Größe der Faktoren nach dem jeweiligen

physiologischen Zustand der Population variiert. Der physiologische Zustand selber sollte über die Verhältnisse einzelner organischer Komponenten der Zellen zueinander ermittelt werden. Durch Bildung geeigneter Quotienten ist es möglich, ebenfalls die Höhe der Primärproduktion in ihrer Größenordnung aus dem Bestand oder den Änderungen des Bestandes abzuleiten.

Literaturverzeichnis

- BANSE, K. (1962): Chemie und Autökologie bei produktionsbiologischen Untersuchungen des Planktons. Kieler Meeresforsch. 18, 132—135. — BERGFELD, R. (1964): Der Einfluß roter und blauer Strahlung auf die Ausbildung der Chloroplasten bei gehemmter Proteinsynthese. Z. f. Naturf. 19b, 1076—1078. — BÖGER, P. (1964): Das Strukturprotein aus Chloroplasten einzelliger Grünalgen und seine Beziehung zum Chlorophyll. Flora 154, 174—211. — BOVE, J. u. I. D. RACKE (1959): Amino-acid activating enzymes in isolated chloroplasts from spinach leaves. Arch. Biochem. 85, 521—531. — BRAVERMAN, G. & J. EISENSTADT (1964): Template and ribosomal ribonucleic acids associated with the chloroplast and the cytoplasm of *Euglena gracilis*. J. molec. Biol. 10, 403—411. — CLARK, L. C. et al. (1953): Continuous recording of blood oxygen tensions by polarography. J. appl. Physiol. 6, 189—193. — EDELMANN, M. (1964): Studies of chloroplast development in *Euglena*. Proc. nat. Acad. Sci. 52, 1214—1219. — GAARDER, T. u. H. H. GRAN (1927): Investigation on the production of plankton in the Oslo-Fjord. Rapp. Proc. Verb. Cons. Int. Expl. Mer. 42. — GESSNER, F. (1959): Hydrobotanik I und II. Dtsch. Verlag der Wissenschaften. — GILLBRICHT, M. (1952): Untersuchungen zur Produktionsbiologie des Planktons in der Kieler Bucht I. Kieler Meeresf. 8, 173—191. — GILLBRICHT, M. (1952): Untersuchungen zur Produktionsbiologie des Planktons in der Kieler Bucht II. Kieler Meeresforsch. 9, 51—61. — GLEICHMANN, U. & D. W. LÜBBERS (1960): Die Messung der Sauerstoffdrucke in Gasen und Flüssigkeiten mit der Platinelektrode. Pflü. Arch. ges. Physiol. 271, 431—455. — GRASSHOFF, K. (1962a, 1962b, 1963): Untersuchungen über die Sauerstoffbestimmung im Meerwasser. Kieler Meeresforsch. 18, 42—50, 151—160 und 19, 8—15. — HAGMEIER, E. (1961): Plankton Äquivalente. Kieler Meeresforsch. 17, 32—47. — HEBER, U. (1962): Protein synthesis in chloroplasts during photosynthesis. Nature 195, 91—92. — HEBER, U. (1963): Ribonukleinsäuren in den Chloroplasten der Blattzelle. Planta 59, 600—616. — HENSEN, V. (1887): Über die Bestimmung des Planktons. V. Bericht d. Komm. z. Unters. d. Deutschen Meere in Kiel XII—XVI. — HICKEL, W. (1966): Untersuchungen über die Phytoplanktonblüte in der Beltsee. Diss. Kiel. Veröff. Helgol. Meeresunt. 16, 3—66. — HUDOCK, G. A. (1966): The regulation of oxygen evolution to chlorophyll and protein synthesis in a mutant strain of *Chlamydomonas reinhardtii*. Plant Physiol. 41, 898—904. — HUDOCK, G. A. & C. BART (1967): Responses of a mutant strain of *Chlamydomonas reinhardtii* to prolonged organotrophic growth. Plant Physiol. 42, 186—190. — HUDOCK, G. A. & R. P. LEVINE (1964): Regulation of photosynthesis in *Chlamydomonas reinhardtii*. Plant Physiol. 39, 889—897. — HUFFACKER, R. C. et al. (1966): Effects of light intensity on photosynthetic carboxylative phase enzymes and chlorophyll synthesis in greening leaves of *Hordeum vulgare* L. Plant Physiol. 41, 913—918. — JEENER, R. (1952): Studies on the evolution of nucleoprotein fractions of the cytoplasm during the growth of a culture of *Polytomella coeca*. 1. Ribonucleic acid content of cells and growth rate. Biochim. biophys. Acta 8, 125—133. — JORDAN, D. C. & W. E. INNIS (1959): Selective inhibition of ribonucleic acid synthesis in *Staphylococcus aureus* by Vaccomycin. Nature (Lond.) 184, 1894—1895. — KANWISHER, J. (1959): Polarographic oxygen electrode. Limnol. Oceanogr. 4, 210—217. — KASEMIR, H. & H. MOHR (1965): Die Regulation von Protein- und Chlorophyllgehalt in Farnvorkeimen durch sichtbare Strahlung. Planta 67, 33—43. — KATAYAMA, M. & A. A. BENSON (1967): Alpha-linolenate and photosynthetic activity in *Chlorella protothecoides*. Plant Physiol. 42, 308—313. — KERN, H. (1960): Zur quantitativen Bestimmung von Nukleinsäuren. Planta 55, 259—273. — KONIGSBERGER, V. & L. BOSCH (1967): Regulation of nucleic acid and protein biosynthesis. Elsevier Publ. Comp. — KREY, J. (1950): Eine neue Methode zur quantitativen Bestimmung des Planktons. Kieler Meeresforsch. 7, 58—75. — KRAUSS, R. W. (1956): Photosynthesis in algae. Ind. Engl. Chem. 48, 1149. — LASCELLE, J. (1960): The formation of ribulose 1,5 diphosphate carboxylase by growing cultures of *Athiorhodaceae* J. Gen. Microbiol. 23, 499—510. — LENZ, J. (1963): Zur Ursache der an die Sprungschicht gebundenen Echostratusschichten in der Westlichen Ostsee. Diss. Kiel. — LEWIN, R. A. (1962): Physiology and biochemistry of algae. Academic Press, New York and London. — LOHMANN, H. (1908): Untersuchungen zur Feststellung des vollständigen Gehaltes des Meeres an Plankton. Wiss. Meeresunt. Kiel. N.F. 10, 129—370. — LORENZEN, H. & H. G. RUPPEL (1960): Versuche zur Gliederung des

Entwicklungsverlaufes der *Chlorella*-Zelle. *Planta* **54**, 265—275. — LOWRY, O. H. et al. (1951): Protein measurement with the folinphenol reagent. *J. biol. Chem.* **193**, 265—275. — LITTLETON, J. W. (1962): Isolation of ribosomes from spinach chloroplasts. *Exp. Cell Res.* **26**, 312—317. — MORRISON-CASSIE, R. (1963): Relationship between plant pigments and gross primary production in *Skeletonema costatum*. *Limn. Oceanogr.* **8**, 433—439. — MYERS, J. (1946): Culture conditions and the development of the photosynthetic mechanism. *J. Gen. Physiol.* **29**, 419—427. — OGUR, M. & ROSEN, G. (1950): The nucleic acids of plant tissues. *Arch. Biochem.* **25**, 262—276. — PASCHER, A. (1939): Die Heterokonten. Akad. Verlag, Leipzig. — RAUEN, H. M. (1956): Biochemisches Taschenbuch. Springer Verlag. — RICHTER, G. (1959): Das Verhalten von Ribonucleinsäuren und löslichen Cytoplasmaproteinen in UV-bestrahlten kernhaltigen und kernlosen Zellen von *Acetabularia*. *Z. f. Naturf.* **14b**, 100—104. — RILEY, G. A. (1941): Plankton studies. IV. Georges Bank. *Bull. Bingham Oceanogr. Coll.* **7**, 1—73. — ROHDE, W. (1958a): Primärproduktion und Seentypen. *Verh. int. Ver. Limnol.* **13**, 121—141. (1958b): The primary production in lakes: some results and restrictions of the ¹⁴C method. *Rapp. Proc. Verb.* **144**, Symposium 1957 (Bergen). — RÖMPP, H. (1962): *Chemie Lexikon*. Franckh'sche Verlagsbuchhandlung Stuttgart. — SCHRAMM, W. (1966): Kontinuierliche Messung der Assimilation und Atmung mariner Algen mittels der elektrochemischen Sauerstoffbestimmung. *Helgol. Meeresunt.* **13**, 272—287. — SCHNEIDER, W. C. (1957): Determination of nucleic acids in tissues by pentose analyses, p. 680—684. In Sidney P. Colwick and Nathan O. Kaplan eds, *Methods in enzymology*, v. III. Academic, New York. — SCHREIBER, E. (1927): Die Reinkultur von marinem Phytoplankton und deren Bedeutung für die Erforschung der Produktionsfähigkeit des Meerwassers. *Wiss. Meeresunt. Abt. Helgoland N.F.* **16**, Nr. 10. — SENGER, H. & BISHOP, N. I. (1966): The light-dependent formation of nucleic acids in cultures of synchronized *Chlorella*. *Plant Cell Physiol.* **7**, 441—455. — SHUGARMAN, P. M. & D. APPLEMAN (1965): Natural variations in the physiological characteristics of growing *Chlorella* cultures. *Plant Physiol.* **40**, 81—84. (1966): Chlorophyll synthesis in *Chlorella* I. The occurrence of a lag phase on initiation of a dilute culture. *Plant Physiol.* **41**, 1695—1700. (1966): Chlorophyll synthesis in *Chlorella* II. Effect of glucose and light intensity on the lag phase. *Plant Physiol.* **41**, 1701—1708. — SISSAKIAN, N. M. et al. (1965): On the protein synthesizing system of chloroplasts. *Biochim. Biophys. Acta* **95**, 474—485. — STEEMAN-NIELSEN, E. et al. (1962): The adaption to different light intensities in *Chlorella vulgaris* and the time dependence on transfer to a new light intensity. *Physiol. Plantarum* **15**, 505—517. — STRICKLAND, J. D. H. (1960): Measuring the production of marine phytoplankton. *Fish. Res. B. o. Canada, Bull.* **122**, 1—172. — UTERMÖHL, H. (1958): Zur Vervollkommnung der quantitativen Phytoplanktonmethodik. *Verh. int. Ver. Limn.* **9**, 1—38. — WERNER, D. (1967): Über reversible Speicherung von Kieselsäure in *Cyclotella cryptica*. *Arch. f. Mikrobiol.* **57**, 43—50. — WILLSTÄTTER, R. & STOLL, A. (1918): Untersuchungen über die Assimilation der Kohlensäure. Berlin. — WOLLGIEHN, R. (1961): Untersuchungen über den Zusammenhang zwischen Nucleinsäure- und Eiweißstoffwechsel in reifenden Samen. *Flora* **148**. (1961): Untersuchungen über den Zusammenhang zwischen Nucleinsäure- und Eiweißstoffwechsel in grünen Blättern II. *Flora* **150**, 117—127.