©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

Nährsalzmangel-Kulturen von *Marchantia polymorpha*

Von

Walter MADER

(Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut der Universität Graz)

Eingelangt am 16. I. 1952

Über die Wirkung einzelner Nährsalze auf die Entwicklung von Moosen hat zuerst BENECKE (1903) eingehender berichtet. Er erkannte u. a. die Abhängigkeit der Rhizoidlänge vom Stickstoffgehalt des Nährmediums bei *Lunularia cruciata*. Auch *Marchantia polymorpha* wurde zu solchen Versuchen herangezogen. LILIENSTERN (1928) hat die Giftwirkung von Einsalzlösungen und den Ionenantagonismus an der Entwicklung der Brutkörper dieser Pflanze studiert und 1929 die Folgen von Kalimangel sowie die günstige Entwicklung des Lebermooses bei hohen Kalikonzentrationen festgestellt. MÄGDEFRAU (1933) behandelt vor allem die Abhängigkeit des Thallusbaues vom Stickstoffgehalt der Nährlösung und kommt zu folgendem Ergebnis: „Zusammenfassend kann also gesagt werden, daß *Marchantia polymorpha* in ihrem Thallusbau durch Abstufungen der Nährsalzkonzentration und vor allem der Stickstoffgabe weitgehend beeinflußt werden kann."

Im Verlaufe von physiologischen Studien an *Marchantia polymorpha* (MADER 1952) habe ich auch Versuche über die Wirkung des Nährsalzmangels angestellt; insoweit die Ergebnisse die Angaben von MÄGDEFRAU und anderen Autoren ergänzen, sei hier kurz darüber berichtet. Vor allem wurden nicht wie bisher nur Brutkörper kultiviert, sondern der Einfluß von Nährsalzmangel auch auf die Entwicklung der Sporenkeimlinge studiert.

I. Kultur-Methode

Als Nährboden-Substrat diente zunächst der von BURGEFF (1943) angegebene 0,75%ige Nähragar; er enthält auf 1000 ccm Aqua dest.:

KH_2PO_4	0,5 g
$MgSO_4$	0,25 g
$Fe_3(PO_4)_2$	0,05 g
$CaCl_2$	0,05 g
$(NH_4)_2SO_4$	0,04 g

Später wurde 1%iger Agar verwendet. Der noch heiße Agar wurde in die zuvor sterilisierten Petrischalen bis zu einer Schichtdicke von etwa 5 mm eingegossen. Alle Kulturschalen wurden zur Lichteinfalls-

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

richtung markiert und sodann am Ostfenster reichlichem Licht ausgesetzt, direkte Sonnenbestrahlung jedoch durch Abschirmen vermieden.

Die einzelnen Mangellösungen wurden zunächst einfach durch Weglassen jeweils eines Salzes hergestellt. Dabei ist der Umstand, daß mit dem Kation stets auch ein Anion ausgeschaltet wird, nicht berücksichtigt. Es bestand also die Kali-freie Lösung aus:

$MgSO_4$	0,25 g
$Fe_3(PO_4)_2$	0,05 g
$CaCl_2$	0,05 g
$(NH_4)_2SO_4$	0,04 g

Der p_H-Wert der Nährlösungen verschob sich dabei nicht wesentlich. Bestimmt wurde der p_H-Wert mit dem MERCK'schen Universalindikator. „BURGEFF-Nähragar" zeigte einen p_H-Wert von 6,5. Ähnliche Werte wiesen auch Ca-freie, Mg-freie, Fe-freie und NH_4-freie Nährböden auf. Das p_H der Kali-freien Nährböden lag bei 6,2—6,3, PO_4-freie Nährböden kamen allerdings auf p_H 5,6—5,8. Die Verschiebung des p_H-Wertes durch den Ausfall des PO_4'' wurde durch kleinste NH_3-Gaben behoben.

Da nun die Frage auftaucht, ob z. B. mit der Ausschaltung des Kaliums durch Weglassen des KH_2PO_4 zur Kalimangelwirkung nicht auch noch eine Phosphatmangelwirkung hinzukomme, wurde später ein Ausgleich der Lösungen angestrebt. Es wurde nach FREUND (1928) zum Teil für einen Ersatz durch entsprechende Chloride und Natriumsalze gesorgt, so daß sich also die Kalimangellösung aus folgenden Bestandteilen zusammensetzte:

NaH_2PO_4	0,5 g
$MgSO_4$	0,25 g
$Fe_3(PO_4)_2$	0,05 g
$CaCl_2$	0,05 g
$(NH_4)_2SO_4$	0,04 g

Um nun die Wirkung eines Phosphatmangels allein studieren zu können, gibt FREUND (1928) bei sonst gleicher Zusammensetzung statt KH_2PO_4 die gleiche Menge Salpeter. Diese Mangellösungen haben noch dazu den Vorteil, daß sich ihr osmotischer Wert nur unwesentlich verändert.

Bei der Kultur im Kali-freien Nährmedium ist überdies darauf zu achten, daß der Agar beim Einfüllen in die Kulturgefäße (Petrischalen) höchstens eine Temperatur von 60° haben soll, da sonst Kalispuren aus dem Glas gelöst werden. Der Agar wurde stets gründlich ausgewässert, ganz salzfrei kann er dadurch allerdings nicht gemacht werden.

II. Sporenkeimung

In der ersten Woche nach der Keimung sind bei allen Mangelreihen noch fast keine Unterschiede zu verzeichnen.

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

1. Kalimangel: Kali-frei gezogene Sporen keimen nach drei bis vier Tagen aus. Auffallend ist dabei die geringe Zahl gekeimter gegenüber zahlreichen ungekeimten Sporen. Der Keimschlauch unterscheidet sich kaum von dem auf normalem Substrat gekeimter Sporen. In den ersten Tagen nach dem Auskeimen gehen höchstens drei Zellteilungen vor sich. Zahlreiche Sporen liegen noch nach zehn Tagen stark gequollen aber ungekeimt auf dem Nährboden. Die Rhizoiden entwickeln sich dagegen in den ersten drei Wochen völlig übereinstimmend mit denen normaler Keimlinge. Vom zehnten Tag bis zum Ende der dritten Woche finden bei einigen Keimlingen noch ein- bis zwei Teilungen am grünen Thallus statt, so daß bis dahin etwa 5 Zellen vorhanden sind. Nach sechs Wochen ist festzustellen, daß sich wohl die Rhizoiden deutlich entwickelt haben, in ihrer Länge die Rhizoiden normal gezogener Keimlinge sogar übertreffen, daß aber am grünen Thallus keine weiteren Teilungen vor sich gegangen sind. Es zeigt sich bei diesen Versuchen, daß Kali-frei gezogene Keimlinge besonders stark verpilzen und dadurch häufig vernichtet werden. Nach acht bis zwölf Wochen waren alle Kali-frei gezogenen Keimlinge eingegangen.

2. Eisenmangel: Eisen-frei gezogene Sporen keimen bereits nach 48 Stunden sehr zahlreich aus. In den ersten zehn Tagen erfolgen drei bis acht Teilungen am grünen Thallus. Die Entwicklung schreitet gleichmäßig vom 10. Tag bis zum Ende der dritten Woche fort. Allmählich beginnt sich im Vergleich zur Kontrolle eine eigenartige unregelmäßige Begrenzung des Thallus zu zeigen. Von der dritten Woche an bleiben die Keimpflanzen auf Fe-freiem Agar deutlich im Wachstum gegenüber der Kontrolle zurück. Nach sechs Wochen übertreffen die Kontrollen die Fe-freien Keimlinge um das Vierfache an Größe. An Eisen-frei gezogenen Pflanzen wurden nach drei Wochen die Chloroplasten gezählt. Das Mittel aus 60 Zählungen ergab für Eisen-freie Keimlinge 18 Chloroplasten pro Zelle, für die Kontrolle 27. Dabei bleibt allerdings zu berücksichtigen, daß die Zellen der Kontrollen etwa um ein Viertel größer waren als die der Fe-freien Keimlinge. Eine ausgesprochene Chlorose tritt hier nicht auf, doch unterscheiden sich die Kulturen von den Kontrollen durch eine blaß gelb-grüne Färbung. Die Lebensdauer dieser Keimlinge war erheblich größer als die der Kali-frei gezogenen. Sie wurden nach drei Monaten auf Erde übertragen, erholten sich dort sehr rasch und erreichten nach weiteren sechs Wochen fast durchwegs die Größe der ebenfalls übertragenen Kontrollen. Ob sich dabei die Chloroplastenzahl erhöht hat, wurde nicht untersucht.

3. Magnesiummangel: Magnesium-frei gezogene Sporen keimen ebenfalls nach 48 Stunden sehr zahlreich aus. Nach zehn Tagen sind durchwegs zwischen sechs und zehn Thalluszellen vorhanden. Vom zehnten Tag bis zum Ende der dritten Woche hält das Wachstum der

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

Magnesium-freien Keimlinge mit dem der Kontrollen Schritt. Dagegen tritt nach der dritten Woche eine deutliche Verlangsamung des Wachstums ein, so daß die Magnesium-frei gezogenen Keimpflanzen nach sechs Wochen erst etwa $^1/_2$ bis $^1/_3$ so groß sind wie die Kontrollen. Auch hier wurden nach drei Wochen die Chloroplasten gezählt. Das Mittel aus 60 Zählungen ergab für Magnesium-freie Keimlinge 26, für die Kontrollen 27.

4. Calcium-Mangel: Calcium-frei gezogene Keimlinge wiesen die geringsten Entwicklungsstörungen auf. In den ersten drei Wochen waren keinerlei Unterschiede festzustellen. Nach sechs Wochen zeigten allerdings auch diese Keimlinge eine deutliche Wachstumshemmung. Sie erreichten etwa $^2/_3$ der Größe der Kontrollen.

III. Brutkörper-Entwicklung

Es ist festzustellen, daß innerhalb der ersten zehn Tage die Entwicklung auf sämtlichen Mangelnährböden normal, d. h. wie bei den Kontrollen verläuft. Dies läßt sich wohl dadurch verstehen, daß die Brutkörper eine größere Menge an Vorratsstoffen und auch Salzen enthalten. Erst wenn diese verbraucht sind, machen sich die Mangelerscheinungen bemerkbar.

1. Kalimangel: Kali-frei gezogene Brutkörper zeigen in den ersten 10—14 Tagen nahezu gleiches Wachstum wie die Kontrollen. Im weiteren Verlauf (bis zum Ende der dritten Woche) wird die Entwicklung jedoch stark gehemmt. Zeigt sich bei den Kontrollen zu dieser Zeit bereits die erste Gabelung der Thallusäste, so sind die Kali-frei gezogenen Brutkörper nach wie vor einfache, ungeteilte Gebilde. Die Vergrößerung beruht hier nicht so sehr auf Zellteilungen als auf Längsstreckung der Zellen des Brutkörpers. Von besonderem Interesse ist es, daß Atemöffnungen an Kali-frei gezogenen Brutkörpern überhaupt nicht ausgebildet werden. Mit Beginn der vierten Woche rollen sich die Thallusränder allmählich nach oben ein. Mikroskopische Untersuchungen dieser Zellpartien zeigen noch keine nekrotischen Veränderungen, solange der übrige Thallus voll turgeszent ist. Nach etwa sechs bis sieben Wochen werden die ganzen Thalli schlaff. Die Pflanzen sterben dann nach 12—24 Stunden ab. Brutbecher werden an Kali-frei gezogenen Thalli überhaupt nicht entwickelt.

Auffallend für Kali-Mangel ist die Entwicklung eines im Verhältnis zur Thallusgröße außerordentlich mächtigen Rhizoidschopfes, während bei den Kontrollen durchschnittlich nur halb so viel Rhizoiden gebildet werden. Die Längenunterschiede der einzelnen Rhizoiden gegenüber denen der Kontrollen sind wenig bedeutend.

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

2. Eisenmangel: Die Mangelerscheinungen bei Eisen-frei gezogenen Brutkörpern treten ebenfalls vor Ablauf von 10—14 Tagen nicht in Erscheinung. Nach drei bis vier Wochen sind bereits deutliche Wachstumshemmungen zu verzeichnen. Dennoch erreichen die Thalli etwa die doppelte Größe Kali-frei gezogener Brutkörper. In dieser Zeit beginnt die normale Gabelung der Thallusäste, wie sie alle Kontrollen zeigen. Der größte Unterschied gegenüber den Kontrollen liegt wohl in der wesentlich geringeren Chloroplastenzahl aller neu angelegten Zellen. Ob die Teilung der Plastiden eingeschränkt ist oder die Entwicklung von Proplastiden zu Plastiden, bleibt zu untersuchen. Die Thalli unterscheiden sich schon rein äußerlich von den Kontrollen durch ihre blaß gelb-grüne Färbung. Mikroskopische Untersuchungen zeigen, daß nicht nur die Chloroplastenanzahl vermindert ist, sondern, daß die Färbung der einzelnen Chloroplasten blasser ist als bei den Kontrollen. Atemöffnungen werden an den Fe-frei gezogenen Thalli schon nach 12 bis 16 Tagen angelegt und unterscheiden sich in ihrem Bau nicht von denen der Kontrollen. Zahlenmäßig sind allerdings deutliche Unterschiede vorhanden. Bei den Kontrollen findet man am Thallus durchschnittlich 14 pro mm^2, bei Fe-frei gezogenen dagegen nur 10—12 pro mm^2. Die Entwicklung von Brutbechern scheint sich um zwei bis drei Wochen zu verzögern. Erst nach zwei Monaten beginnt ihre Bildung an einzelnen Fe-frei gezogenen Thalli, andere entwickeln überhaupt keine Brutbecher. Es konnte immer wieder beobachtet werden, daß nicht nur die Zahl der Brutbecher sondern auch die der darin gebildeten Brutkörper eine geringere ist als bei den Kontrollen. Auf die Rhizoidenentwicklung scheint Eisenmangel keinen sonderlichen Einfluß zu haben. Die Lebensdauer Fe-frei gezogener Thalli wurde nicht über 16 Wochen hinaus verfolgt.

3. Magnesiummangel: Bei Magnesiummangel verläuft die Entwicklung in den ersten vier Wochen vollkommen normal (übereinstimmend mit der der Kontrollen). Die Thalli sind kräftig, dunkelgrün und nach dieser Zeit bereits gabelig verzweigt. Die Atemöffnungen unterscheiden sich weder in ihrer Zahl noch in der Form von normal gezogenen Pflanzen. Im Durchschnitt wurden 12—14 Atemöffnungen pro Quadratmillimeter gezählt. Brutbecher werden hier ebenfalls völlig gleich wie bei den Kontrollen gebildet. Im Durchschnitt kann man pro Quadratzentimeter des Thallus einen Brutbecher feststellen. Nach etwa zwei Monaten merkt man jedoch bei den Mg-frei gezogenen Thalli eine geringe, aber doch schon mit freiem Auge sichtbare Wachstumshemmung im Vergleich zu den Kontrollen. Die Lebensdauer dieser Pflanzen dürfte bei entsprechenden Kulturbedingungen praktisch der der Kontrollen gleichkommen. Die Versuche wurden auch hier nach 16 Wochen abgebrochen.

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

4. Calciummangel: Ca-Mangel macht sich bei der Entwicklung der *Marchantia*-Brutkörper durch die geringsten Abweichungen von der Normalpflanze bemerkbar. Farbe, Form und Zeitpunkt der Verzweigung des Thallus sind vollkommen normal. Erst nach zwei bis drei Monaten treten geringfügige Wachstumshemmungen gegenüber den Kontrollen auf. Atemöffnungen sind in Form und Anzahl nicht von denen der Kontrollen zu unterscheiden, ebenso die Zahl der Brutbecher. Durchschnittlich wird auch hier pro Quadratzentimeter Thallusfläche ein Brutbecher angelegt. Die Rhizoidentwicklung ist sowohl bei Magnesium- als auch bei Calciummangel vollkommen übereinstimmend mit den Kontrollen und für die Lebensdauer der Ca-freien Pflanzen gilt das, was für Mg-freie Thalli gesagt wurde.

5. NH_4-Mangel: Bei NH_4-Mangel treten bereits nach zwei bis drei Wochen deutliche Abweichungen in der Entwicklung zutage. Die Thalli bleiben sehr schmal und wachsen vor allem in die Länge. Ähnlich den Fe-frei gezogenen zeigen auch diese Thalli eine hellgelb-grüne Färbung. Eine Verminderung der Chloroplastenzahl liegt hier jedoch nicht vor, wohl aber sind die einzelnen Chloroplasten gelbgrün. Die Gabelung der Thallusäste tritt nahezu gleichzeitig mit der der Kontrollen ein. Atemöffnungen sind infolge der abnormen Längserstreckung der Atemkammern weitaus weniger zu verzeichnen als bei den Kontrollen (Durchschnittlich acht pro Quadratmillimeter), Brutbecherentwicklung setzt im allgemeinen nach zwei Monaten ein. Zu diesem Zeitpunkt beginnen jedoch die NH_4-frei gezogenen Thalli zu vergilben und abzusterben. In ganz besonderem Maße äußert sich der Stickstoffhunger in der Rhizoidentwicklung. Die Zahl der Rhizoiden stimmt annähernd mit der der Kontrollen überein, doch übertreffen die Rhizoiden der NH_4-freien Kulturen die normalen um das zwei- bis dreifache an Länge.

6. Phosphatmangel: Bei Phosphat-Mangel zeigen die Brutkörper nach 14—20 Tagen ähnliche Hemmungserscheinungen wie kalifrei gezogene. Es scheint allerdings, daß der Phosphatvorrat in den Brutkörpern längere Zeit reicht als der Kalivorrat, denn bei Kali-Mangel stellen sich Hemmungserscheinungen schon nach 10—14 Tagen ein. Bis zu drei Wochen erfolgt das Wachstum bei Phosphatmangel nur sehr langsam. Die Gabelung der Thallusäste geht spät und deutlich gehemmt vor sich und die Gabeläste stellen bald ihr Wachstum ein.

Meist schon in der dritten Woche der Entwicklung, stets aber nach vier Wochen, beginnen sich die Thallusränder nach oben einzurollen, ähnlich wie bei Kali-Mangel. Zum Unterschied von den Erscheinungen bei Kali-Mangel geht mit dieser Einrollung eine Schwärzung mit nekrotischem Zerfall des Gewebes vor sich. Die Schwärzung greift allmählich auch auf die mittleren Thalluspartien über und die Pflanzen gehen nach weiteren sechs bis acht Tagen zugrunde. Eine Verlängerung der

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

Rhizoiden tritt auch hier deutlich zutage, doch sind die Längenunterschiede gegenüber den Kontrollen etwas geringer als bei NH_4-Mangel. Die Rhizoiden sind hier etwas mehr als doppelt so lang wie die normaler Pflanzen.

Rhizoidlängen in Millimeter

	Kontr.	K—	Mg—	Ca—	Fe—	NH_4—	PO_4—	frei
Rhizoidlänge nach 18 Tagen	4	4	3—4	3—4	3—4	12—14	8—10	
Thalluslänge	5	3	4	5	4	2	2	

Zusammenfassung

1. Auf Kali-freiem Substrat keimen die Sporen von *Marchantia polymorpha* nur in geringer Zahl aus und erreichen höchstens ein Fünf-Zellstadium. Die Rhizoiden werden sehr lang. Die Keimlinge sind nicht lang lebensfähig.

Das Größerwerden Kali-frei gezogener Brutkörper ist lediglich in einer Streckung der Zellen des Brutkörpers begründet. Neue Atemöffnungen werden nicht ausgebildet, ebenso wenig werden Brutbecher angelegt.

2. Auf Eisen-freiem Substrat gezogene Sporen zeigen eine unregelmäßige Thallus-Kontur. Die Keimlinge bleiben im Wachstum hinter den Kontrollen zurück, sind aber durchaus lebensfähig. Die Zahl der Chloroplasten ist wesentlich geringer als die der Kontrollen.

Eisen-frei gezogene Brutkörper zeigen Wachstumshemmung und starke Herabsetzung der Chloroplastenanzahl und zugleich starke Chlorose. Die Zahl der Atemöffnungen steht hinter der der Kontrollen nach. Die Anlage von Brutbechern erfolgt später als bei den Kontrollen. Eisenmangel hat keinen Einfluß auf die Rhizoidentwicklung.

3. Magnesium-frei gezogene Sporenkeimlinge bleiben erst nach der vierten Woche in ihrem Wachstum hinter den Kontrollen zurück. Die Zahl der Chloroplasten ist nur wenig geringer als die der Kontrollen. Bei Magnesium-Mangel verläuft die Entwicklung der Brutkörper zunächst annähernd normal, erst relativ spät ist eine geringe Wachstumshemmung zu verzeichnen.

4. Bei Calcium-Mangel liegen bei Sporen und Brutkörper die geringsten Abweichungen von der normalen Entwicklung vor.

5. Bei NH_4-Mangel wachsen die Brutkörper stark in die Länge, Verminderung der Chloroplastenzahl liegt nicht vor, wohl aber deutliche Chlorose. Die Thalli vergilben frühzeitig und sterben ab. Die Rhizoiden werden doppelt so lang wie bei den Kontrollen.

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

6. Der Phosphat-Mangel äußert sich zunächst in einem langsamen Wachstum, das schließlich gänzlich eingestellt wird. Die Thallusränder rollen sich nach oben und unter nekrotischem Zerfall des Gewebes gehen die Pflanzen rasch zugrunde.

Schriftenverzeichnis

BENECKE 1903. Über die Keimung der Brutknospen von *Lunularia cruciata*. Bot. Z. 1903.

BURGEFF 1943. Genetische Studien an *Marchantia*. Jena.

FREUND 1928. Über die Bedingungen des Wachstums von *Oedogonium pluviale*. Planta 5.

LILIENSTERN 1928. Physiologische Untersuchungen über *Marchantia polymorpha* L. in Reinkultur. Ber. deutsch. bot. Ges. 46.

— 1929. Physiologische Untersuchungen über die Ursachen des Vorkommens von *Marchantia polymorpha* auf Feuerstätten. Ber. deutsch. bot. Ges. 47.

MADER 1952. Keimung colchicinierter *Marchantia* Sporen. Phyton 4.

MÄGDEFRAU 1933. Versuche über den Einfluß der Ernährung auf den Thallusbau von *Marchantia polymorpha*. Ber. deutsch. bot. Ges. 51.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Phyton, Annales Rei Botanicae, Horn

Jahr/Year: 1952

Band/Volume: 4_1_3

Autor(en)/Author(s): Mader Walter

Artikel/Article: Nährsalzmangel-Kulturen von Marchantia-polymorpha. 124-131