© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

67. Oswald Richter: Reinkulturen von Diatomeen.

Mit Doppeltafel XXVII.

Eingegangen am 29. Oktober 1903.

Seitdem Koch's berühmte Isolierungsmethoden in der Botanik Eingang gefunden und sich bei der Kultur von Bakterien und Pilzen glänzend bewährt haben, hat man bereits wiederholt versucht, Algen auf diese Weise in Reinkulturen zu gewinnen. Indem ich auf das ausführliche Literaturverzeichnis in Artari's Abhandlung „Über die Bildung des Chlorophylls durch grüne Algen“ [1]) verweise, möchte ich nur Beijerinck's [2]) Untersuchungsmethoden gedenken, dem es als Erstem gelang, die „Gelatinemethode“ zur Reinkultur von Algen zu verwerten.

In ihrer einfachsten Form beschreibt er sie S. 727: „Grabenwasser wurde, ohne Zusatz irgend einer Nährsubstanz, mit 10 pCt. Gelatine gekocht und auf die gewöhnliche Weise mit einem Tröpfchen des grünen Wassers vermischt, ausgegossen und erstarrt.“

Im späteren Verlaufe der Untersuchungen wurden Nährsalze, organische Beimengungen usw. zugetan und so die Physiologie und Biologie einer Reihe von Algen und einer Flechtengonidie ergründet.

Einen weiteren Fortschritt in der Methodik bedeutet Beijerinck's [3]) Reinkultur von *Pleurococcus vulgaris*.

Das Agar, dem die Nährsubstrate zugesetzt werden sollten, wurde nämlich vor Zusatz derselben mit destilliertem Wasser gut gewässert. Denn dadurch gehen die für das Aufkommen von Bakterien günstigen Stoffe in Lösung und werden entfernt. Über die Bedeutung des Waschens von Agar-Agar vergleiche Krasser's „Algen“ [4]).

In einer 2prozentigen Lösung eines derartig gewässerten Agar kamen an anorganischen Nährsalzen auf 100 Teile dest. Wassers:

0,05 *g* . . . . . NH_4NO_3
0,02 „ . . . . . Kaliumphosphat (es wird nicht erwähnt, ob Mono- oder Di-)
0,02 „ . . . . . $MgSO_4$
0,01 „ . . . . . $CaCl_2$

1) A. Artari, diese Berichte Heft 4, 1902, S. 201.

2) M. W. Beijerinck, Kulturversuche mit Zoochlorellen, Lichenogonidien und anderen niederen Algen. Bot. Zeit. 1890, S. 725 u. f.

3) Derselbe, Notiz über *Pleurococcus vulgaris*. Centr. für Bakt. und Paras., Abt. II, 1898, Nr. 21.

4) F. Krasser, „Algen“ in J. Wiesner „Die Rohstoffe des Pflanzenreiches“. II. Aufl., Bd. I, Leipzig 1900, S. 646.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Das genannte Agar erwies sich für die Reinkultur von Algen ausserordentlich vorteilhaft. Bezüglich der Namen der von Beijerinck und Artari rein kultivierten Algen verweise ich auf die zitierten Originalabhandlungen.

In jüngster Zeit hat dieses gewässerte Agar auch bei der Kultur einer Kohlenstoffspuren assimilierenden Bakterie sehr gute Dienste geleistet[1]).

Für meine Untersuchungen von besonderem Interesse ist Beijerinck's Bemerkung[2]) über die von ihm versuchte Reinkultur von Diatomeen:

„Vergeblich versuchte ich die Diatomeen durch Gelatine zu isolieren," und unter dem Striche: „Auch mit anderen Süss- und Salzwasserdiatomeen sind meine Isolierungsversuche fehlgeschlagen."

Nun haben aber gerade seine und Artari's Versuche über die Kultur rein gezüchteter grüner Algen in Nährlösungen verschiedener Zusammensetzung so überraschende Ergebnisse gezeitigt, dass derartige Beobachtungen auch für Diatomeen äusserst wünschenswert gemacht worden sind.

Der Erste, der Diatomeenreinkulturen besessen hat, ist Miquel[3]). Man muss nur bedauern, dass er in seinem Berichte I sich so kurz gefasst hat, dass die Bedeutung seiner eingehenden und umfassenden Kulturstudien gar nicht zur Geltung kommt und dass deshalb seine Arbeit im „Le Diatomiste" viel zu wenig bekannt geworden ist. Dazu mag freilich auch viel die alleinige Veröffentlichung der Versuchsanordnung in der wertvollen Zeitschrift „Le Diatomiste" beigetragen haben, deren Beschaffbarkeit Schwierigkeiten macht[4]).

Er verwendet in der angeführten Mitteilung die Ausdrücke **„cultures à l'état de pureté absolue"** und **„cultures ordinaires"** ohne eine genauere Erklärung, so dass tatsächlich einer, der die Abhandlung im „Le Diatomiste" nicht kennt, sich von dem Sinne dieser Worte keine Vorstellung machen kann.

Miquel unterscheidet nämlich **„cultures ordinaires"** und **„cultures pures des Diatomées"**. Die ersteren, die lediglich darin bestehen, Diatomeen neben

1) M. W. Beijerinck, en A. van Velden „Over een kleurlooze bacterie, waarvan het koolstofvoedsel mit de lucht kommt". Versl. konikl. Akad. Amsterdam D. 1, XI, 1902/3, p. 450—465. Ref. Bot. Centr., Bd. XCII., Nr. 16, XXIV. Jahrg., S. 353.

2) Derselbe, l. c. Kulturversuche usw. S. 750.

3) P. Miquel. I. Comptes rendus de l'Académie des sciences, t. CXIV, 28. Mars 1892, S. 780. — II. De la culture artificielle des Diatomées. Le Diatomiste, Bd. I, 1892. — III. Recherches expérimentales sur la physiologie, la morphologie et la pathologie des Diatomées. Annales de Micrographie, Mars 1892, 1—5. — Für die Übermittelung der diesbezüglichen Separata danke ich dem Herrn Verfasser bestens.

4) Für die leihweise Überlassung bin ich Herrn Dr. O. Müller zu grossem Danke verpflichtet.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

niederen Lebewesen der verschiedensten Art im Laboratorium gesund zu erhalten, teilt er wieder in solche des Süss- und solche des Meerwassers.

Bei den **„cultures pures des Diatomées"** macht er wieder einen Unterschied zwischen **„cultures d'une seule espèce de Diatomées"** und **„cultures des Diatomées à l'état de pureté absolue".**

Die ersteren sind solche, wo eine Diatomeenspezies unter Ausschluss jeder anderen Kieselalge wächst.

Die letzteren, wo sie unter Ausschluss jedes anderen Lebewesens gedeihen, erzielt MIQUEL durch sein etwas umständliches Verfahren der „séparation mécanique"[1]). Von dem tatsächlichen Vorhandensein von Reinkulturen überzeugte sich MIQUEL dann durch Überimpfen auf Gelatine, denn in diesem Falle durften keine Bakterienkulturen aufschiessen.

Das Genauere sehe man in der Arbeit nach[3]).

Zur Gewinnung von mit Bakterien verunreinigten Kulturen einer Spezies benutzte MIQUEL auch frische Kieselgallerte, wobei er das KOCH'sche Verfahren modifizierte.

Kurze Zeit nach[2]) MIQUEL's Veröffentlichung hat MACCHIATI in einer vorläufigen Mitteilung[3]) ein ganz analoges Kulturverfahren publiziert, das darin bestand, Diatomeen auf Nährgelatine, die mit Kaliumsilikat versetzt war, zu ziehen.

Mir steht diese erste Mitteilung MACCHIATI's nicht zur Verfügung; dagegen seine zweite[4]), aus der ich eine Stelle in der Übersetzung[5]) wiedergeben möchte, nach der es mir sehr fraglich erscheint, ob MACCHIATI wirklich eine Reinkultur von Diatomeen besass:

„In meiner vorigen Veröffentlichung habe ich auch ein Mittel angegeben, durch das man eine Reinkultur einer gegebenen Spezies erhalten kann, wie man es seit Jahren bei Bakterien macht, doch habe ich hinzugefügt, dass gewöhnlich mehrere Spezies, die zu verschiedenen Gattungen gehören, oder auch andere Mikroorganismen anwesend sind, doch konnte ich darin keine schwere Schädigung finden."

Seit dieser Zeit haben sich nur mehr BENECKE[6]) und KARSTEN[7]) mit der Kultur von Diatomeen abgegeben, haben aber für die Beantwortung ihrer Fragen Reinkulturen nicht gebraucht.

Zweck dieser Mitteilung ist es nun, zu zeigen, **dass man mit der Koch-Beijerinck'schen Trennungsmethode mit Agar-Agar Reinkulturen von Diatomeen erhalten kann.**

---

1) MIQUEL, II, l. c. S. 155.

2) MIQUEL's Brief in „Le Diatomiste". Bd. I, 1892, S. 118.

3) L. MACCHIATI, Communicazione preventiva sulla cultura delle diatomee. Atti della società dei Naturalisti di Modena. Memorie originali, serie III, vol. XI, 1892.

4) Derselbe, Seconda communicazione sulla coltura delle Diatomee. Separatte dal Bullettino della Società botanica italiana, Adunanza della Sede di Firenze dell' 8. Maggio 1892, S. 331.

5) Herrn stud. phil. HUGO ILTIS danke ich bestens für die Übersetzung der MACCHIATI'schen Arbeit.

6) W. BENECKE, Über farblose Diatomeen der Kieler Föhrde. PRINGSH. Jahrb. der wiss. Botanik 1900, Bd. 35, S. 535.

7) G. KARSTEN, Über farblose Diatomeen. Flora 1901, S. 404.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Schon seit dem Jahre 1900 versuche ich auf die wiederholte Aufmunterung Prof. MOLISCH's hin Anabaenen und Oscillarien auf Agar zu kultivieren, was mir denn auch insofern gelungen ist, dass sie neben Bakterienkulturen auf dem festen Substrate ganz prächtig gedeihen.

Die „Gelatinemethode" war wegen der raschen Verflüssigung der Gelatine durch die Bakterien absolut unbrauchbar. Dagegen erwies sich ein nach BEIJERINCK's Vorschlag gewässertes Agar ausserordentlich zweckmässig.

Nach einigen Misserfolgen erschien das folgende Verfahren für die Isolierung das geeignetste:

10 *g* käufliches Agar werden geschnitten und zwei bis drei Tage in langsam fliessendem Leitungswasser gewaschen, dann einen Tag in destilliertem Wasser durch häufiges Wasserwechseln abgespült und bei 100° C. in destilliertem Wasser gelöst; die vorhandene Flüssigkeitsmenge wird filtriert und das Filtrat, das einen zarten Farbenstich ins Graue hat, auf 1000 *ccm* mit destilliertem Wasser ergänzt.

Dazu kommen:

0,2 *g*	KNO_3
0,2 „	K_2HPO_4
0,2 „	$MgSO_4$
0,2 „	$CaSO_4$
Spur	$FeSO_4$

Das entstandene Nähragar reagiert schwach alkalisch. Sollte aus irgend einem Grunde nicht deutliche Alkalaeszenz erzielt worden sein, so kann mit Soda oder Normalnatronlauge nachgeholfen werden. Es ist dabei von grösster Wichtigkeit, Dikaliumphosphat und nicht Monokaliumphosphat zu verwenden.

Die Zusammensetzung der Nährlösung in dieser Form ist seinerzeit von MOLISCH[1]) für viele Algen empfohlen worden, und ich habe mit ihr ausgezeichnete Resultate erhalten.

In dieser Weise habe ich eine *Oscillaria*- und eine *Anabaena*-Form bereits seit 1900 in „Kultur". „Rein", d. h. bakterienfrei ist sie freilich heute noch nicht[2]).

---

1) H. MOLISCH, Die Ernährung der Algen. Süsswasseralgen, II. Abhandlung. Sitzungsber. der kais. Akad. der Wiss., math.-nat. Kl., Bd. CV, 1896, Sep.-Abdr. S. 2 [634].

2) In jüngster Zeit hat R. BOUILHAC „Recherches sur la végétation de quelques algues d'eau douce" (Thèse; 8°, 46 p., Paris 1898) veröffentlicht, worin er von einem rein kultivierten *Nostoc* spricht. (Ref. JUST's Jahrb. 1900, 1. Bd.) — Vergl. auch seine Notiz in den Comptes rendus, t. CXXV, 1897, Nr. 22, S. 880 (ref. Bot. Centralbl. 1898, LXXIV, S. 14) „Sur la culture du *Nostoc punctiforme* en présence

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Ich will hier gleich erwähnen, dass ich bei meinen späteren Versuchen mit Diatomeen den Zusatz von $CaSO_4$ zum Agar weglassen konnte, ja dass das Weglassen von $CaSO_4$ sogar zweckmässiger war, auch konnte das Agar 2 pCt., 1,5 pCt., 0,7 pCt., 0,5 pCt. verwendet werden.

Schliesslich sei noch hervorgehoben, dass bei Benutzung von Gelatine (die Verwendung derselben war natürlich erst nach erlangter Reinkultur möglich) auch der KNO_3-Zusatz unterbleiben konnte, so dass sich die Darstellung der Nährgelatine folgendermassen wiedergeben lässt:

100 *g* feinster weisser Gelatine werden in etwa 700 bis 800 *ccm* destillierten Wassers quellen gelassen und nach zwei bis drei Stunden in demselben Wasser aufgelöst. Hierauf wird auf 1000 *ccm* ergänzt und zu dieser Lösung bloss 0,2 *g* K_2HPO_4 und 0,2 *g* $MgSO_4$, sowie eine Spur $FeSO_4$ zugesetzt. Dann macht man die Lösung mittels Natronlauge schwach alkalisch und klärt mit Eiweiss.

Am 2. Dezember 1902 wurden, um noch einige Formen von Oscillarien und Anabaenen im Laboratorium vorrätig zu haben, eine grössere Anzahl Petrischalen mit einem Gemenge von Oscillarien, Spirulinen, Anabaenen und auch Diatomeen aus einem Tümpel nächst Prag geimpft.

Nach 48 Tagen bemerkte ich auf einer Agarplatte schöne Diatomeenkolonien von zweifachem Habitus, die einen waren kreisrund, dicht und intensiv braun, die anderen sahen für das unbewaffnete Auge gelben Doppelpinseln täuschend ähnlich. Von beiden Arten wurde abgeimpft und die Kultur der getrennten Algen so lange fortgesetzt, bis beide Formen auch bakterienfrei, also vollkommen rein waren.

Die Fig. 1 der Tafel XXVII stellt eine Reinkultur von *Nitzschia Palea* (Kütz.) W. Sm.[1]) (VAN HEURCK Synopsis, Tab. 69, Fig. 22b) vor, wie ich solche des öftern erhalten habe, die Fig. 2 derselben Tafel eine solche von *Navicula minuscula* Grun, V. H. (Tab. XIV, Fig. 3).

Die Bestimmung der beiden Diatomeen übernahm in liebenswürdiger Weise Herr Dr. O. MÜLLER-Berlin, dem ich meinen herzlichen Dank für seine Mühe sage.

Die Bestimmung von Diatomeen ist, obwohl nicht so schwierig wie die der Bakterien, keineswegs eine leichte Sache. Wenn es nun gelänge, zur Diagnostizierung von Diatomeen auch charakteristische Kulturmerkmale heranzuziehen, so läge darin auch für den Systema-

---

du glucose", sowie dessen *Nostoc*- und *Anabaena*-Kulturen in „Influence de l'aldéhyde formique sur la végétation de quelques algues d'eau douce" (Comptes rendus, 29. Dezember 1902. Ref. Bot. Centralbl. 1903, Nr. 5, S. 122).

1) Diese *Nitzschia* scheint sich besonders für derartige Kulturen im Laboratorium zu eignen, da auch MIQUEL mit ihr mit Erfolg operierte. (MIQUEL II, l. c. S. 150.)

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

tiker ein Gewinn. Wie verschieden dabei Merkmale von Lebendkulturen distinkter Gattungen und Arten sind, zeigen die folgenden Angaben:

1. Nitzschia Palea (Kütz.) W. Sm.

1. Gelatineplatte[1]):

Nach 3 Tagen sind Kolonien, die aus 4 bis 7 Diatomeen bestehen, bei 50facher Vergrösserung zu sehen. Die Diatomeen ziehen Striche in der Gelatine.

Nach 5 Tagen sind die Kolonien bereits makroskopisch, aber noch schwer sichtbar, weil ihre Farbe in dieser dünnen Lage sehr genau mit der der Gelatine übereinstimmt.

Nach 9 Tagen, Kolonien in der Regel massenhaft entwickelt, submers oder oberflächlich, die oberflächlichen fangen an die submersen an Ausbreitung zu übertreffen.

Nach 15 Tagen: Oberflächenkultur etwa 3 *mm*, mehr diffus.
Submerse Kultur etwa 1 *mm*, mehr büschelartig.

Nach 26 Tagen beginnt die Verflüssigung, die Kulturen fangen an einzusinken.

2. Gelatinestrich:

Am 2. Tage ist der Impfstrich bereits sichtbar.

Nach 4 Tagen: Der Strich ist bis 1 *mm* breit.

Nach 9 Tagen: Der Strich ist bis 2 *mm* breit; neben dem eigentlichen Striche sind die Diatomeen herausgewandert und beginnen sich diffus in die Nachbarschaft zu schieben, so dass die ganze Kultur ein mehr minder doppelkammartiges Äussere erhält. Nun verbreiten sich die Diatomeen auf der ganzen Strichfläche.

Nach 20 Tagen sinkt die Kultur ein, und die verflüssigte Gelatine sammelt sich bei steiler Eprouvettenlage[2]) am Boden der Eprouvette. — Bei flacher Lage der Eprouvetten tritt Verflüssigung in Kegelform ein. (Fig 4*b* auf Taf. XXVII.)

3. Gelatinestich:

Am 2. Tage bereits deutliche Vermehrung. Die Wände des Stichkanals sind von Diatomeen dicht ausgekleidet.

Nach 13 Tagen: Die Diatomeen haben sich strahlig vom Mittelkanal aus in die Gelatine gezogen, wobei sie manchmal eine Richtung bevorzugen. Der Stichkanal samt diesem Diatomeenmantel hat einen Durchmesser von 4 *mm*, nach unten verjüngt. Auf der Oberfläche der Kultur keine Ausbreitung.

Nach 30 Tagen von oben her trichterförmige Verflüssigung.

4. Agarplatte[3]):

Nach 7 Tagen deutlich mikroskopisch sichtbare Vermehrung. Die Diatomeen sind

1) Die in diesem und den folgenden Versuchen mit *Navicula* verwendete Gelatine war 10 pCt.

2) Sehr bewährt hat sich das Aufhängen der Eprouvetten mittels feinen Drahts an einem starken am Fensterrahmen befestigten Drahte.

3) Diese Angaben und die folgenden, auch der nächsten Beschreibung, beziehen sich auf 1,5 pCt. Agar.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

in Reihen zu 7 und mehr angeordnet, an manchen Gruppen zeigt sich bereits die Tendenz der Büschelbildung[1]).

Nach 9 Tagen: Büschelbildung ist allgemein; von jetzt ab bleiben die Büschel bei den submersen dauernd erhalten, während sie bei den oberflächlichen Kolonien infolge der Phototaxis mehr diffus werden.

Nach 20 Tagen: Oberflächliche Kulturen etwa 3—4 *mm* } beide noch ziemlich
Submerse „ „ 2—3 „ } büschelig.

Vergl. Photographie Taf. XXVII, Fig. 1 und 5*a*.

2 pCt. Agar lässt die Büschelform besonders hervortreten, 1 pCt. und 0,5 pCt. macht die Büschelform verschwinden (Tafel XXVII, Fig. 3). Die Diatomeen ziehen leichte Furchen im Agar.

Nach Monatsfrist sinken die Kolonien im Agar ein, indem sie es aufzuzehren scheinen. Alle Kulturen, besonders oberflächliche zeigen deutliche Phototaxis (Tafel XXVII, Fig. 3).

5. Agarstrich:

Die Diatomeen sind in dünner Schicht auf dem Agar nicht zu sehen, d. h. wird der Strich erst nach 10 Tagen unterscheidbar, ist dann aber schon etwa 2 *mm* breit. Nun erfolgt rasches Wachstum unter Verstärkung der Färbung.

Nach 20 Tagen bedecken die Diatomeen die ganze Strichfläche etwa windwolkenartig angeordnet.

6. Agarstich:

Nach 10 Tagen deutlich sichtbar, frischer undeutlich aus dem oben angegebenen Grunde.

Nach 16 Tagen 2 *mm* breit, nach unten verjüngt.

7. Verhalten der Kolonien auf Gelatine und auf Agar in Gestalt und Grösse in makroskopischer Beziehung:

Das darauf Bezügliche vergleiche in der Figurenerklärung.

8. Eigenbewegung:

Muss wegen der beobachteten Gänge noch vorhanden sein, ist aber durch die Reibung der Diatomeenschalen an den festweichen Nährböden so verlangsamt, dass sie nicht gesehen werden kann. — Nimmt man eine Kolonie mit Gelatine oder Agar heraus und zerdrückt das Substrat unter Zufliessenlassen von Wasser, so erweisen sich die Diatomeen als beweglich.

---

1) Herr Dr. Müller schrieb mir von den Büscheln: „Die Entwicklung in Büscheln hat Ähnlichkeit mit der mancher Schizonemen; man könnte auf die Vermutung kommen, dass die Individuen in Schläuchen stecken. Da die Fäden einreihig sind, müssen sie sich nach der Teilung verschieben. Mir ist diese Anordnung deshalb so interessant, weil *Navicula Palea* zu den lebhaft beweglichen Formen gehört.“

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

9. Grösse der Diatomee:

In Gelatine . . . . . 27 μ lang, 5 μ breit
„ Agar . . . . . 27 μ „ 5,4 μ „
somit nicht wesentlich verschieden.

10. Chemische Leistungen:

1. Verflüssigt Gelatine. — 2. Löst Agar.

2. Navicula minuscula Grun.

1. Gelatineplatte[1]):

Nach 9 Tagen werden die Kolonien erst mikroskopisch sichtbar (Betrachtung bei 50facher Vergrösserung), und zwar in Form kleiner, unregelmässig begrenzter Häufchen.

Nach 15 Tagen sind die Kolonien makroskopisch sichtbar, weil 0,5 *mm* im Durchmesser, mehr minder unregelmässig kugelig; von ihnen gehen Fortsätze aus geldrollenartig angeordneten Diatomeen aus.

Nach 25 Tagen makroskopisch, 2 *mm* gross. — Die Kolonienausläufer bringen ein Verschmelzen der Nachbarkolonien zustande. — Einen wesentlichen Unterschied zwischen Oberflächenkolonien und submersen habe ich dagegen noch nicht gefunden. — Oberflächenkolonien sind leicht eingesunken.

2. Gelatinestrich[1]):

Erst nach 10 Tagen deutlich häufchenartige Kolonien, folgen dem Strich, Durchmesser etwa 0,5 *mm*. — Während der Vergrösserung dieser ersten in der Folge: Auftreten neuer Kolonien.

Nach 20 Tagen: Breite des Gebietes, worauf sich Kolonienhäufchen befinden, 2 *mm*. Die ersten Einsenkungen werden bemerkbar, die mit der Zeit immer tiefer werden. (Vergl. Taf. XVII, Fig. 4*a*.)

3. Gelatinestich[1]):

Nach 13 Tagen bei 18facher Vergrösserung wenig sichtbare Kolonien.

Nach einem Monat ein kaum wesentlich anderes Bild.

4. Agarplatte[2]):

Nach 7 Tagen bei schönem Wetter und starkem diffusen Licht bereits makroskopisch sichtbar.

Nach 10 Tagen: Oberflächenkulturen 2—4 *mm*, in seltenen Fällen bis 7 *mm* (vergl. Photographie). Submerse Kolonien 0,3—1 *mm*. — Der Unterschied zwischen beiden Koloniearten sehr auffallend. (Taf. XXVII, Fig. 2 und Figurenerklärung). Zonenweises Wachstum häufig bei Oberflächenkulturen.

---

1) Die Angaben beziehen sich auf 10 pCt. Gelatine.
2) Die Angaben beziehen sich auf 1,5 pCt. Agar.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Dichtsaat verhindert die normale Ausbildung der Kolonien. Die *Navicula*-Individuen ziehen tiefe Furchen in dem Agar. Eine Diatomee bahnt als Pionier den Weg, die anderen folgen. Auch Rückwanderungen konnten festgestellt werden. — Die Diatomeen zeigen deutliche Phototaxis.

Nach Monatsfrist sinken sie tief in die Agarplatte ein.

5. Agarstrich[1]):

Nach 10 Tagen vereinzelte makroskopisch sichtbare Kolonien längs des Striches. Die Kolonien haben Häufchengestalt.

Nach 20 Tagen haben sich die Kulturen stark vermehrt, ihr Durchmesser rund 0,5—1 *mm*.

6. Agarstich[1]):

Nach 13 Tagen wie bei den Gelatinestichkulturen ganz wenig Kulturen in unmittelbarer Nähe des Stichkanals. — Nach Monatsfrist sind die Kulturen tief dunkel gefärbt.

7. Verhalten der Kolonien auf Gelatine und auf Agar in Gestalt und Grösse in mikroskopischer Beziehung.

Das darauf Bezügliche vergleiche in der Figurenerklärung.

8. Eigenbewegung:

Es gilt dasselbe wie bei *Nitzschia Palea*, nur ist die Bewegung im Wasser langsamer.

9. Grösse der Diatomee:

In Gelatine . . . . . 15—17 μ lang, 7 μ breit
„ Agar . . . . . 16-18 „ „ 7 „ „

somit nicht wesentlich verschieden.

10. Chemische Leistungen:

1. Verflüssigt Gelatine. — 2. Löst Agar.

Anhangsweise möchte ich hier noch erwähnen, dass meine Kulturen eigentlich einen sehr kleinen Raum meines Arbeitstisches einnehmen, da die verschiedenen Petrischalen einfach übereinander gestellt und etwa 13 Stück mit einem $1^1/_2$ bis 2 *l* Becherglase ohne Wasserabschluss überdeckt sind. Zweck des Bedeckens ist der Schutz vor Austrocknung der Substrate. Selbstverständlich werden die zu vergleichenden Kulturen in gleiche Höhe über die Tischplatte gebracht, also gleich belichtet. Sehr gut ist die Verwendung von mit Leitungswasser gefüllten Senebier'schen Glocken statt der Bechergläser. Der Tisch ist mit einer Glasplatte bedeckt, unter der weisses Papier liegt, um möglichst starkes reflektiertes Licht zu erzielen. Für einen längeren Zeitraum erwies sich behufs Verhinderung des Abdampfens für Eprouvettenkulturen als vorzüglicher Verschluss ein Korkstöpsel, der über den Wattepfropf gegeben und mit Paraffin oder eingedampftem venetianischen Terpentin verschmiert wurde.

---

1) Das Kondensationswasser, das sich bei 1,5 pCt. Agar am Boden der Eprouvetten bildet, ist für das Erhalten eines feuchten Raumes und das Fortkommen der Diatomeen selbst von Vorteil.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Es ist von Interesse, dass die Gelatine von den Diatomeen verflüssigt wird, analog wie von *Scenedesmus acutus*, einer von BEIJERINCK[1]) isolierten Grünalge.

Höchst auffallend aber ist die Fähigkeit beider Diatomeen Agar aufzulösen.

Das zeigt sich zunächst makroskopisch daran, dass die Kulturen tiefe Gruben durch Einsinken im Agar ausbilden.

Das Auffallendste der Erscheinung kommt aber besonders dadurch zum Ausdruck, dass bisher nur ein einziges Analogon in der jüngst von GRAN[2]) entdeckten „Gelase" besteht, die von einer bestimmten Meeresbakterie ausgeschieden wird.

Die Fähigkeit der Lösung von Agar mag vielleicht auch der Grund sein, warum besonders die Individuen von *Navicula minuscula* Grun die erwähnten langen Furchen beim Gleiten im Agar hinterlassen, die dann wie Fahrstrassen von den folgenden Diatomeen benutzt werden.

Die Vermehrungsgeschwindigkeit[3]) ist, wie ein Blick auf die Beschreibungen von *Nitzschia Palea* (Kütz.) W. Sm. und *Navicula minuscula* Grun lehrt, nach Spezies und Nährboden verschieden.

Kulturen von *Nitzschia Palea* auf Agar sind nach 6 Tagen mikroskopisch mit der Linsenkombination 2 des REICHERT'schen Mikroskopes zu sehen als etwa 6 bis 8zählige Diatomeenreihen; nach 10—12 Tagen sind sie bereits makroskopisch sichtbar.

Solche von *Navicula minuscula* Grun auf Agar können bei günstigem diffusen Lichte auf Agar mit der *Nitzschia* an Wachstumgeschwindigkeit wenigstens in den ersten 14 Tagen wetteifern, dagegen bleiben sie auf Gelatine weit hinter der raschwüchsigen Konkurrentin zurück.

Kulturen von *Nitzschia Palea* auf Gelatine sind bereits am dritten Tage mikroskopisch, am 5.—6. Tage makroskopisch deutlich wahrnehmbar, so dass man in diesem Falle wirklich eine Wachstumsgeschwindigkeit erzielt, die die einer ganzen Menge von Bakterien in Schatten stellt.[3])

Kulturen von *Navicula minuscula* Grun dagegen wurden nach 9 Tagen mikroskopisch und nach 15 Tagen erst makroskopisch sichtbar. Der Vergleich der beiden Beschreibungen macht auch den Unterschied zwischen submersen und oberflächlichen Kolonien klar.

---

1) BEIJERINCK, Kulturversuche usw. l. c. S. 729.

2) H. H. GRAN, Studien über Meeresbakterien. II. Über die Hydrolyse des Agar-Agar durch ein neues Enzym, die Gelase. Ref. Bot. Centralbl. 1902, Bd. 90, S. 264.

3) MIQUEL hat bereits das ungemein rasche Wachstum der *Nitzschia Palea* beobachtet. Le Diatomiste, l. c. S. 170.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Aus der Nebeneinanderstellung und der eingehenden Beschreibung beider Algen wird es in hohem Grade wahrscheinlich, dass man in der Agar-Gelatine-Methode ein vorzügliches Hilfsmittel hat, die systematische Bestimmung von Diatomeen zu erleichtern und nach verschiedenen Richtungen hin zu ergänzen.

Vergleiche die Agarplattenkulturen[1]) Fig. 1 und Fig. 2, die Strichkulturen Fig. 4 sowie die Mikrophotographien[2]) der Figuren 5 a und b, und 6 a und b.

Die vorliegenden Ausführungen ergänzend und gewisse bereits angedeutete Befunde hervorhebend, kann ich bereits einige wesentliche Resultate später mitzuteilender Versuche vorwegnehmen:

1. Grelles Sonnenlicht schädigt[3]) die Diatomeenkulturen, entfärbt sie und kann den Tod der Kolonien bedingen.

2. Ein sehr günstiges Licht wird durch die Verwendung von mit Leitungswasser gefüllten SENEBIER'schen Glocken erzielt, weil darin die dunklen Wärmestrahlen zum grossen Teile absorbiert werden.

3. Auf die Vegetationsbilder hat die Konsistenz des Agars einen wesentlichen Einfluss. So zeigt in Fig. 5*a* die *Nitzschia Palea* auf 1,5 pCt. die typische Büschelform, die besonders bei 2 pCt. Agar stark ausgeprägt ist; auf 0,5 pCt. und 1 pCt. Agar, die bereits gelatinöser sind, werden flache, nicht charakteristische Figuren erzeugt. Diese Tatsache mag auch mit der flachen Verbreitung der Oberflächenkulturen im Zusammenhange stehen.

4. Die Diatomeen erwiesen sich in meinen Versuchen als positiv phototaktisch[4]), wie Fig. 3 darstellen soll. Der in die Figur eingezeichnete Pfeil gibt die Richtung der einfallenden Strahlen an.

---

1) Für die Herstellung der Makrophotographien für meine Arbeit bin ich dem Herrn Demonstrator FRANZ RUTTNER zu grossem Danke verpflichtet.

2) Dem Herrn Prof. Dr. PELIKAN, Leiter des k. k. mineralogischen Institutes unserer Universität, erlaube ich mir meinen herzlichen Dank auszusprechen für die gütige Erlaubnis, die Mikrophotographien in seinem Institute ausführen lassen zu dürfen und seinem Assistenten Herrn Dr. ANTON GAREISS für die Liebenswürdigkeit, die Aufnahmen durchgeführt zu haben.

3) MIQUEL ist bei seinen Nährflüssigkeitsversuchen zu etwas anderem Resultate gekommen, er findet, dass *Nitzschia Palea* auch „sous l'action d'une lumière très vive" sehr gut gedeiht (vergl. Anm. 3 auf S. 502).

4) MIQUEL wurde bei seiner praktischen Versuchsanordnung für die mikroskopische Diatomeenuntersuchung, zu der er übrigens auch ein eigenes Mikroskop konstruiert hat, auch auf die Phototaxis der Diatomeen aufmerksam.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

5. In ernährungsphysiologischer[1]) Hinsicht konnte bereits festgestellt werden, dass das Mg für das Gedeihen der Diatomeen absolut notwendig ist. Es ist höchst wahrscheinlich gemacht worden, dass die Diatomee *Nitzschia Palea* des Ca nicht bedarf, worin sie mit MOLISCH's[2]) Befunden über niedere grüne Algen übereinstimmt.

Starke, durch viel Natriumkarbonatzusatz erzeugte Alkaleszenz schadet den Diatomeen nicht.

Die Diatomeen sind imstande, ihnen gebotene organische Substanzen zu assimilieren.

Auf dem nach dem oben angegebenen Rezepte erzeugten Agar ohne organische Zusätze gedeihen die beiden Diatomeen im Dunklen nicht.

Die Diatomee *Nitzschia Palea* verträgt in Gelatinekulturen bei direkter Impfung, ohne vorherige Gewöhnung an steigenden ClNa-Gehalt, bis 2 pCt. ClNa[3]), und kann bei dieser Kochsalzmenge noch wachsen und sich vermehren. Dabei nimmt das Wohlbefinden der Alge mit steigendem ClNa-Gehalt ab.

Da mir bakterienfreie Diatomeenreinkulturen zur Verfügung stehen, gedenke ich gewisse Versuche von MIQUEL und die so interessanten von ARTARI, sowie die von MOLISCH über die anorganische Nahrung grüner Algen mit meinen beiden Diatomeen zu wiederholen und später der Öffentlichkeit zu übergeben.

Prag, k. k. Pflanzenphysiolog. Inst. der k. k. deutschen Universität.

---

1) MIQUEL konnte an die Frage der Ernährung der Diatomeen nicht herantreten, da er an der falschen Meinung festhält, organische Substanzen seien für Diatomeen absolut notwendig, und weil seine Nährflüssigkeiten viel zu kompliziert zusammengesetzt sind (l. c. II, S. 93, 94, 168).

2) H. MOLISCH, Die Ernährung der Algen. I. Sep.-Abdr. aus den Sitzungsber. der Kais. Akad. der Wiss. in Wien, Math.-naturw. Klasse, Bd. CIV, Abt. I, Okt. 1895.

3) Vergl. A. RICHTER, Über Anpassung der Süsswasseralgen an Kochsalzlösung. Flora 1892, S. 4–56.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Erklärung der Abbildungen.

Die Figuren sind nach Photographien wiedergegeben.

Fig. 1. Kultur von *Nitzschia Palea* (Kütz.) W. Sm. auf 1,5 pCt. Agar, 14 Tage alt, etwas verkleinert. Der Pfeil gibt die Richtung der Lichtstrahlen an. Man sieht zweierlei: büschelförmige und mehrstrahlige Kulturen. Erstere sind submers, letztere Oberflächenkulturen bezw. solche, bei denen die submers gewesenen Diatomeen die Oberfläche erreicht haben.

„ 2. Kultur von *Navicula minuscula* Grun auf 1 pCt. Agar in derselben Vergrösserung wie Fig. 1. 14 Tage alt. Der Pfeil gibt wieder den Lichteinfall an. Es sind zweierlei Kulturen unterscheidbar: die einen sind tief dunkel, scharf abgegrenzt, punktförmig, die andern sind verschwommen und gehen an ihren Rändern unscharf ins Agar über. Die ersten sind die submersen, die letzteren die Oberflächenkulturen. Besonders schön sind die zwei grossen Kulturen etwas links von der Mitte; sie stellen aus dem Agar heraufgekommene submerse Kolonien vor, die sich nun freudig an der Oberfläche verbreiten. Man beachte das zonenweise Vorrücken und die ellipsenartige Vorwölbung der Kolonie gegen den Lichteinfall.

„ 3. 14 Tage alte Kultur von *Nitzschia Palea* auf 0,5 pCt. Agar. Die Kolonien sind alle gleichartig, nicht büschelförmig. Der Pfeil gibt den Lichteinfall an. Alle Kolonien sind zum Lichteinfall ausgezogen. (Fast natürliche Grösse.)

„ 4. Zeigt zwei 3 Monate alte Kulturen beider Diatomeen, und zwar waren die Eprouvetten etwa unter einem Winkel von 30° von der Horizontalen in einem offenen, weiss ausgelegten Karton dem starken diffusen Tageslichte eines Nordfensters ausgesetzt.

a *Navicula minuscula* Grun. Die Kolonien haben die Gelatine teilweise verflüssigt und sind infolge dessen eingesunken.

b *Nitzschia Palea* (Kütz.) W. Sm. Die Diatomeen haben einen tiefen Kegel in der Gelatine erzeugt, an dessen Grunde sie sich angesammelt haben.

„ 5. *a* 26 Tage alte Kultur von *Nitzschia Palea* auf 1,5 pCt. Agar, zirka 30fach vergrössert. Der zentrale dicke, unregelmässig begrenzte, dunkle Fleck ist die Kolonie, soweit sie submers ist. Aus ihr entspringen aufsteigende und büschelig angeordnete „Fäden“, die dadurch zustande kommen, dass in dem halbfesten Medium die Diatomeen hinteinander zu liegen kommen.

b Mikrophotographie von *Navicula minuscula* Grun, die auf 1,5 pCt. Agar kultiviert wurde. Vergrösserung wie bei *a*. Alter der Kultur wie bei *a*. Das Wachstum ist wesentlich verschieden. Die zentrale Partie war zunächst submers und, nachdem die Diatomeen die Oberfläche der Agarplatte erreicht hatten, haben sie sich in Zonen in der Umgebung verteilt,

„ 6. *a* Gelatinekultur von *Nitzschia Palea*, 14 Tage alt, auf 10 pCt. Gelatine. Vergrösserung etwa 70fach. Oberflächenkultur.

b Gleichalte Kontrollkultur von *Navicula* auf 10 pCt. Gelatine, bei gleicher Vergrösserung. Die anhangartigen Gebilde erwiesen sich als geldrollenartig angeordnete Diatomeen.

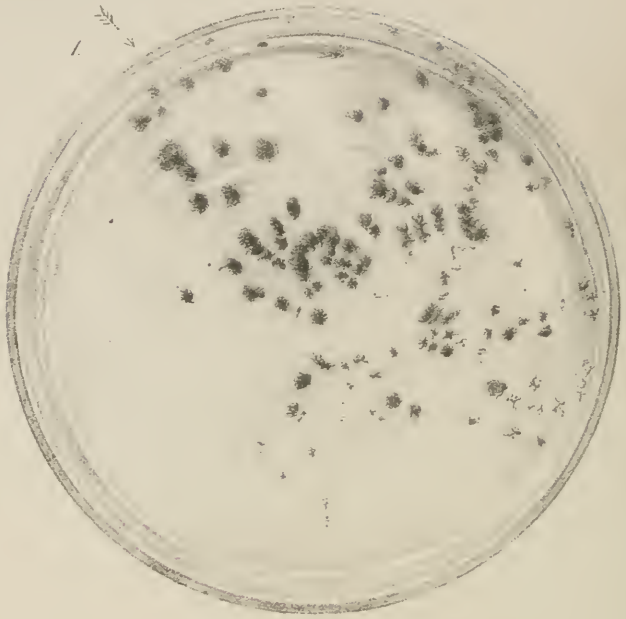
© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

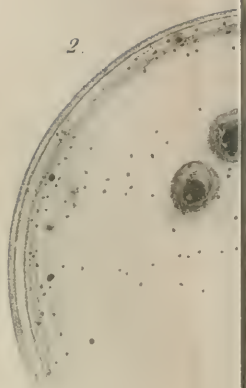
Fig. 7. Dazu ist nur zu bemerken, dass die Gelatine 14 pCt., das Agar 1 pCt. war. Daher kommen auf der Gelatine die Büschelformen besonders schön zum Ausdruck, während dem relativ verdünnten Agar die Fähigkeit für die Erzeugung dieser Formen abgeht.

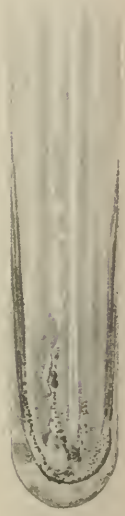
Man beachte die kolossale Wachstumsförderung der Diatomeen in der Gelatine. (Bei Herstellung der Nährsubstrate wurde in beiden Fällen vom N-Zusatz abgesehen.)

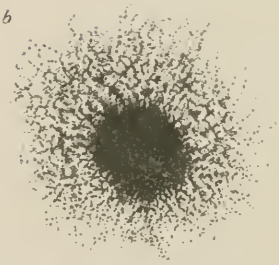
Die kultivierte Form war *Nitzschia Palea*.

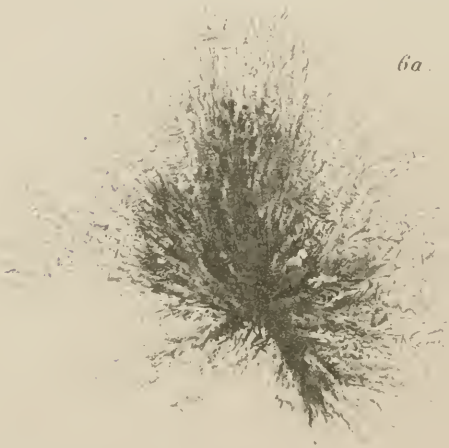
© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

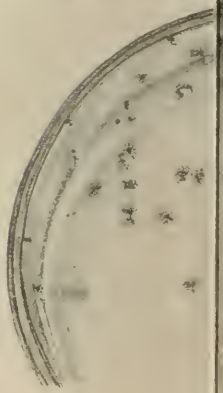




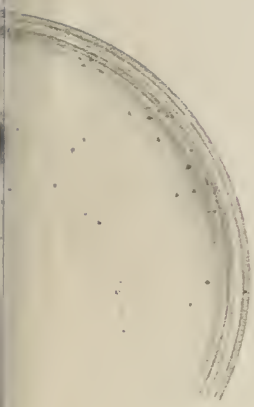




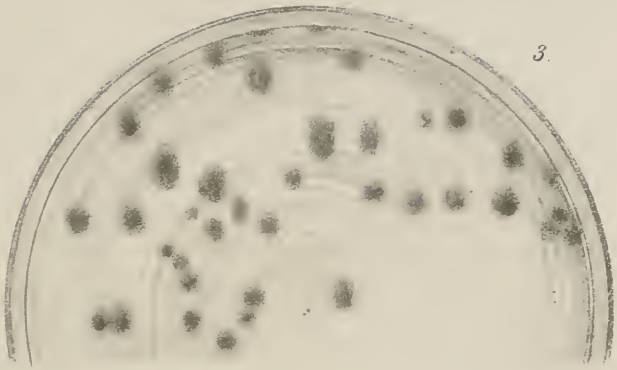


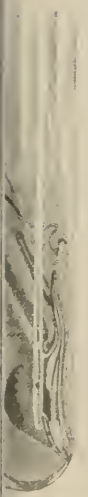


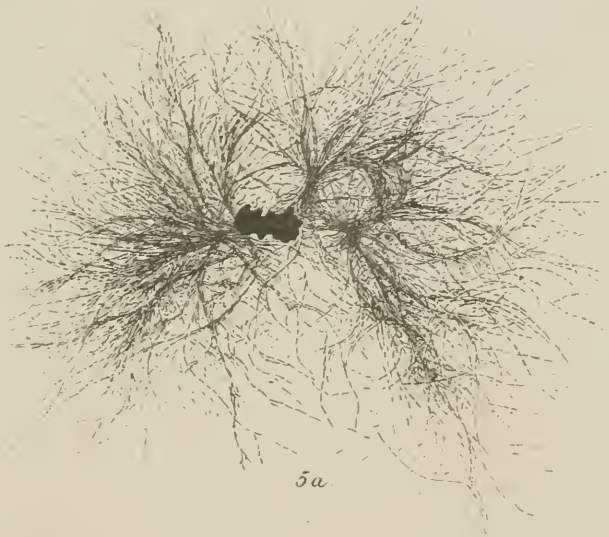
© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at



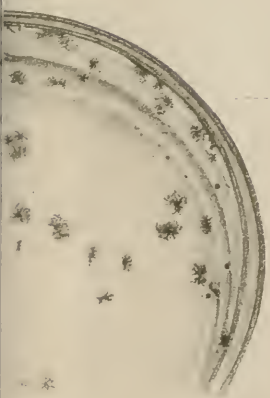
3.







5a.



7.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft

Jahr/Year: 1903

Band/Volume: 21

Autor(en)/Author(s): Richter Oswald

Artikel/Article: Reinkulturen von Diatomeen. 493-506