

Ueber die Kultur von Konjukaten.

(Vorläufige Mitteilung.)

Von Viktor Czurda.

Die Gattung *Spirogyra* hat zu vielen physiologischen und morphologischen Untersuchungen gedient. Diese sind aber bisher immer nur an einem Material vorgenommen worden, das vorher unter ganz unbestimmten Lebensbedingungen gestanden hat. Die Watten wurde in großen Gefäßen (Aquarien) mit Wasser vom natürlichen Standort kultiviert. Dagegen ist es bisher nicht gelungen, einen Faden unter bestimmten Außenbedingungen sicher zu kultivieren. Mit dem Auffinden einer derartigen Kulturmethode wäre jederzeit ein gesundes und geeignetes Untersuchungsobjekt gesichert. Vom Referenten wurde zunächst versucht, verschiedene Vertreter dieser Gattung unter dem angedeuteten Gesichtspunkt in Dauerkultur zu nehmen.

Es wurden verschiedene Species, *Sp. setiformis*, *Sp. majuscula*, *Sp. Weberi*, *Sp. varians* und andere unbestimmte Species herangezogen. Ausgegangen wurde von Mineralsalzlösungen, wie sie *Knop* (1860), *Benecke* (1898), *Molisch* (1895, 1896) empfehlen. Das für die Lösung verwendete, destillierte Wasser war nochmals aus Glas in Glas oder aus Platin in Glas (nach dem Vorgange *Molischs*, 1895) destilliert worden. Als Kulturgefäße dienten Eprouvetten und Erlenmeyerkolben. Es gelangten Flüssigkeitsmengen von 10—200 cm³ zur Anwendung. Das jeweilige Impfmateriale (4—6 ca 1 cm lange Fadenstücke) wurde aus möglichst reinen Watten aus der Natur, wo sie sich in intensivem Wachstum befanden, genommen. Von den genannten Lösungen erwies sich keine für die Dauerkultur als geeignet. Die Fäden wuchsen nur unbedeutend, was hauptsächlich auf Zellverlängerung zurückzuführen war. Außerdem erfolgte in wenigen Tagen (dickfädige Species) oder Wochen (dünnfädige Species) ein Vergilben der Chloroplasten und eine so intensive Stärkespeicherung in Form von Pyrenoid- und Stromastärke, daß die einzelnen Protoplastenteile vollkommen verlagert wurden.

Nach verschiedenen Kombinationen der Kat- und Anionen, nach verschiedener Variation der Gesamtkonzentration wie der der einzelnen Komponenten der Lösung, der Reaktion, der Form, in der der Stickstoff geboten wurde (Nitrit, Nitrat, Ammonium), erwies sich bei den genannten Species, besonders bei *Sp. setiformis*, die auf das 10- bis 40fache verdünnte *Benecke*-Lösung als die geeignetste. Darin war die relativ

intensivste Zellvermehrung und die geringste Stärkebildung zu beobachten. Ebensogut eignet sich Erddekokt (Herstellung Pringsheim 1921) mit 0,05 % Kalziumnitrat.

Die verdünnte Benecke-Lösung ermöglichte unter den gewählten Versuchsbedingungen (10 cm³ Flüssigkeit in Eproutetten) die Stämme von *Spirogyra setiformis* und *Sp. varians* über ein Jahr durch Überimpfen fortzuführen. Das bedeutet zunächst einen erfreulichen Fortschritt, da damit gezeigt ist, daß auch diese Alge kultivierbar ist und daß es nunmehr an einem kleinen Umstand liegt, daß sich die Kulturen nicht noch weiter fortführen ließen.

Über den Winter wurden die Kulturen tagsüber (12 Stunden) künstlich beleuchtet. Mikroskopisch zeigten die Fäden saftgrünes Aussehen. Mikroskopisch erwiesen sie sich allerdings auch unter diesen Bedingungen schon in den ersten Wochen stärkerreicher als es während der Vegetationsperiode in der Natur der Fall ist. Trotz dreiwöchentlicher Überimpfungen nahm allmählich der Stärkegehalt jedoch auch hier zu, wobei der Längenzuwachs der übertragenen Fadenstücke ständig kleiner wurde. Schließlich regten die weiteren Überimpfungen kein Wachstum mehr an (nach 11 Monaten). *Sp. majuscula* konnte nach dem anfänglichen guten Wachstum nicht fortgebracht werden. Die Protoplasten veränderten sich stark und die Fäden hefteten sich nach durchschnittlich 4 Wochen am Boden der Gefäße mittels „Rhizoiden“ an (Glas- und Paraffinwände). Eigene Versuche über den Einfluß von Leuchtgas auf die „Rhizoidbildung“ konnten den von Woycicki (1909) angegebenen Zusammenhang nicht bestätigen.

Da für gewisse Experimente feste Nährböden in Betracht kommen, wurden auch solche für Kulturversuche verwendet.

Sp. setiformis ist hierfür ungeeignet. Die Stärkespeicherung setzt bald nach der Überimpfung stark ein, die Zellvermehrung bleibt ganz unbedeutend. Das mag wohl zum Teil mit der Größe der Zellen zusammenhängen.

Sp. varians und *Sp. Weberi* gehen auf Agar mit anorganischen Salzen (Benecke) gut an. Das Wachstum ist recht intensiv. Die Protoplasten verändern sich jedoch mit der Zeit ganz beträchtlich, wohl infolge der starken Stärkespeicherung. Dabei bleiben die vielfach verunsalteten Chloroplasten intensiv grün. Trotz der starken Protoplastenveränderung lassen sich die Kulturen durch Überimpfungen lange fortführen. Bei *Sp. majuscula* ist nach anfänglichem leidlichem Wachstum direktes Absterben oder Rhizoidbildung mit nachfolgendem Absterben — wie in den Flüssigkeitskulturen — zu beobachten.

Von den übrigen Zygnemalen sind Arten von *Zygnema* nach den von Pringsheim (1912) angegebenen Methode

kultivierbar. Einen Stamm, den er mir in liebenswürdiger Weise zur Verfügung gestellt hat, führe ich zurzeit in Speciesreinkultur noch fort. Mougeotiaarten zeigten in Flüssigkeitskulturen kein oder sehr geringes Wachstum. Auf Agar mit anorganischen Salzen gingen sie aber gut an.

Desmidiaceen wurden von Pringsheim (1912, 1918) zum erstenmal kultiviert. Daß die von ihm angegebenen Kulturbedingungen ein ausgezeichnetes Wachstum ermöglichen, beweisen die Kulturen von drei *Cosmarium* und ein *Closterium*-stämme, die sich vom Jahre 1912 bis heute in sehr gutem Zustand fortführen ließen. Neben diesen hat er auch Vertreter der Mesotaeniaceen in Kultur genommen und gefunden, daß sie sich verhältnismäßig leicht kultivieren lassen. Einen Vertreter dieser Gruppe — *Mesotaenium caldariorum* — habe ich abermals in Kultur genommen. Diese Kulturversuche waren insofern am erfolgreichsten, als es durch wiederholte Plattengüsse mittels eines Knop-agars gelungen war, diesen Organismus absolut rein zu erhalten. Probe auf Reinheit erfolgte mit Fleischbrühe und anderen vorzüglichen Bakteriennährsubstraten. Damit sind die ersten absoluten Reinkulturen eines Vertreters der Konjugaten gewonnen.

Um das geeignetste Nährsubstrat, das Ausgangsmaterial für Versuche sichert, zu finden, wurden eine Reihe orientierender Vorversuche angestellt. Sie ergaben, daß die genannte Art auf Agar mit anorganischen Salzen (Knop, Benecke u. ä.) recht gut gedeiht. In den entsprechenden Lösungen gedeiht es im allgemeinen schlechter. Das hängt wohl mit der Lebensweise dieses Mesotaeniums als Landbewohner zusammen. Ersetzt man aber in der Benecke-Nährlösung das Kalziumnitrat durch Kaliumnitrat oder setzt man zu der Benecke-Nährlösung Glukulose, Asparagin, Glykokoll zu, so wird auch in der Lösung das Wachstum wesentlich gefördert.

Ähnliches erreicht man mit der Erhöhung des Sauerstoffgehaltes der Luft (50 %). Da die Verwendung von Agar als Substrat Unbequemlichkeiten mit sich bringt, wenn verschiedene Nährstoffkombinationen untersucht werden sollen, so wurde asche- und stärkefreies Filterpapier als Unterlage für die Aussaat versucht. Schmale Streifen davon an die Eprouvettenwand angelegt, ermöglichen eine gleichmäßige Befeuchtung mit der zu untersuchenden Lösung. Der hiemit erzielte Kulturerfolg ist ausgezeichnet. Für gewisse Fälle empfiehlt es sich, diese Papierstreifen über in die Eprouvette eingeführte Glasstreifen zu ziehen. Die Kontrollversuche mit Agar ohne Nährsalzzutaten und mit Filterpapier, das bloß mit destilliertem Wasser befeuchtet war, ergaben ein kaum merkliches Wachstum. Weitere Versuche zeigten, daß dieses Ausbleiben des Wachstums nur

auf das Fehlen einer geeigneten Stickstoffquelle zu setzen ist und daß die übrigen notwendigen Stoffe sowohl in Agar als auch im Filterpapier in solchen Mengen vorhanden sind, daß sie ein fast normales Wachstum ermöglichen. Mit diesen beiden Kulturmethoden kann also nur die Stickstoff- und die Kohlenstofffrage untersucht werden. Es sollen nun in Kürze die bisherigen Ergebnisse der diesbezüglichen Versuche genannt werden.

Soweit es sich um anorganische Stickstoffquellen handelt, sind Nitrat und Ammon etwa gleich gut geeignet. Auch mit Nitrit wurden sehr gute Erfolge erzielt. Es ist indessen nicht genügend gesichert, ob nicht im Präparat vorhandene geringe Nitratmengen den Erfolg mit sich brachten. Von organischen Stickstoffquellen wurden bisher eingehend Asparagin, Glykokoll, Leucin untersucht. Die beiden erstgenannten sind sehr gute Stickstoffquellen. Das Leucin — (wenigstens das Präparat, das mir zur Verfügung stand,) verhinderte jegliches Wachstum. Ob in diesem Präparat ein Giftstoff vorliegt oder ob die Giftwirkung auf irgendwelche in der Lösung gebildete Spaltungsprodukte zurückzuführen ist, ist vorderhand nicht entschieden.

Weiterhin wurde die Frage untersucht, welche Stoffe neben der Kohlensäure als Kohlenstoffquelle in Betracht kommen. Die Frage erscheint umso berechtigter, als darüber sehr wenige Versuche vorliegen und die vorliegenden, auch wenn sie alle einwandfreie Ergebnisse geliefert hätten, keine Verallgemeinerungen auf unsere Art zulassen.

Vor allem erscheint mir die Versuchsanordnung, mit der bisher gearbeitet wurde (besonders Bokorny), nicht einwandfrei zu sein. Weiter bedarf es einer schärferen Kritik der Versuchsergebnisse, als sie bisher angewendet wurde.

1. Versuche von so grundlegender Bedeutung müssen an absolut bakterienfreiem Versuchsmaterial vorgenommen werden. Bei dem normalen geringen Kohlensäuregehalt der Luft sind die grünen Pflanzen an und für sich an die Auswertung von ganz geringen Mengen von Kohlensäure angepaßt, so daß auch Spuren von ihr, die von den mit anwesenden Bakterien gebildet werden, von großer Bedeutung sind. Bakterielle Trübungen der Versuchsfüssigkeiten können keinesfalls als entscheidendes Moment für die Beantwortung der Frage herangezogen werden, ob ein vorliegender Versuch in dieser Beziehung ein noch einwandfreies Ergebnis geliefert hat, wie es Bokorny tut.

2. Als Kriterium dafür, ob eine gegebene organische Substanz als Kohlenstoffquelle in Frage kommt, wurde vielfach die Stärkebildung angesehen (Bokorny, Loew). Es ist in Anbetracht der Ergebnisse der Enzymforschung (Sjöberg 1920, 1922) gar nicht zwingend, daß alle bis jetzt als verwendbar bezeichneten Stoffe, besonders unter Berücksichtigung des oben erho-

benen Einwandes, — als Kohlenstoffquelle in Betracht kommen müssen. Man wird bei Versuchen, die diese Frage klären sollen, unbedingt das Wachstum als Kriterium heranziehen müssen. Erfolgt nämlich über längere Kulturdauer hin Wachstum bei Licht- oder Kohlensäureentzug, so ist offenbar dieses Wachstum nur möglich, wenn der hiezu notwendige Kohlenstoff aus der dargebotenen Kohlenstoffverbindung entnommen wird. Aber auch dieses Kriterium wird möglicherweise — gewisse Versuche sprechen dafür — noch nicht alle möglichen Kohlenstoffquellen erfassen lassen. Es scheint nämlich die Erscheinung vorzuliegen, daß gewisse Stoffe eine für das Wachstum unzureichende Kohlenstoffmenge liefern, aber eine ausreichende Menge zur Erhaltung der Lebensfähigkeit, sodaß das Versuchsobjekt nach einem halben Jahr nach Herausnahme aus dem Versuchsmilieu und nach darauffolgender Darbietung von Kohlensäure noch in normales Wachstum übergehen kann.

3. Die bisher zur Anwendung gelangten Versuchsanordnungen zur Erzielung eines kohlenstofffreien Raumes sind nicht genügend geprüft worden, ob sie tatsächlich auch die geringsten Spuren von Kohlensäure ausschließen. Die absolute Entfernung dauert, wie eigene Versuche zeigen, relativ lange (1—3 Tage!). Da die Stärke ebenfalls nach wenigen Tagen beobachtet wurde (Bokorny), so erscheinen diese Angaben nicht zuverlässig.

Unter Berücksichtigung der geschilderten Möglichkeiten von Versuchsfehlern wurden eine Reihe von organischen Stoffen auf ihre Brauchbarkeit als Kohlenstoffquelle bei *Mesotaenium* geprüft. Bisher gelangten solche Stoffe zur Prüfung, die in der Literatur als geeignete Kohlenstoffquellen bezeichnet wurden. Natürlicherweise ist bei den bisher erzielten Ergebnissen nie zu vergessen, daß auch sie keine Verallgemeinerungen zulassen. Es ist zu erwarten, daß sich von den streng autotrophen Organismen alle Übergänge zu den heterotrophen werden finden lassen, daß auch bei den Grünalgen verschieden stark ausgebildete Auto- und Heterotrophie vorliegen wird. Die gleich zu nennenden Stoffe wurden so geprüft, daß Dunkelkulturen und Versuche mit Ausschluß der Kohlensäure mit entsprechenden Kontrollversuchen, die unter normalen Bedingungen gehalten wurden, in der Mehrzahl angesetzt wurden. Die Stoffe wurden in geeigneter Menge (Monosaccharide 1 %, Disaccharide 2 %, die übrigen, mit Ausnahme der beiden letzten, 0,1 % der Nährlösung zugesetzt. Als Ergebnis wurde der Zustand der Kultur nach 2 Monaten verzeichnet.

Bisher wurden untersucht:

d Glukose, d Fruktose, d Galaktose, d Mannose, d Dulzit,
d Mannit,
Saccharose, Laktose,

Glykokoll, Asparagin, Leucin,
Kalziacetat, Kalziumlaktat, Kalziumtartrat,
Fleischextrakt (Liebig), Trypsingelatine.

Das Ergebnis war folgendes:

In den Dunkelkulturen und Kulturen mit Kohlensäureaus-
schluß wurde Wachstum nur in d Glukose und Saccharose, und
zwar in den Dunkelkulturen und kohlenstofffreien Kulturen
vollkommen gleichartig, beobachtet (keimfreie Aussaat der Zellen
in Tropfen einer Aufschwemmung). Die übrigen Stoffe ermög-
lichten kein Wachstum. Diese Ergebnisse erheischen noch
einige Nachuntersuchungen, da in d Mannose und d Mannit bei
Impfung mit großen Zellenmassen entschieden auch ein Wachs-
tum beobachtet wurde, eine Erscheinung, die an anderen Orga-
nismen (Hefen) schon länger bekannt ist. Diese Beobachtung
zeigt übrigens, daß die in Rede stehende Frage nicht immer
leicht zu beantworten ist. Auffallend war bei den bisherigen
Versuchen noch die Erscheinung, daß in d Galaktose (frisches
Präparat von Merck!) auch in den Kontrollkulturen (kohlen-
säurehaltige Luft) gar kein, in Laktose ein sehr gehemmtes
Wachstum trotz Wiederholung der Versuche beobachtet wurde,
als ob hier Giftwirkung (?) vorläge. Ob sich die gleiche Er-
scheinung bei Verwendung anderer Präparate von Galaktose und
Laktose wiederholen wird, muß noch untersucht werden. Die
Versuchsergebnisse an diesen beiden Stoffen können also vorder-
hand nicht verwertet werden. Da die Kontrollversuche ohne
Galaktose- und Laktosezusatz normales Wachstum zeigten, ist
wohl an eine Giftwirkung von seiten des Präparates zu denken.

Die Ergebnisse zeigen schon im heutigen Umfang eine Reihe
Gegensätze zu den Beobachtungen Bokornys, die wohl nicht alle
auf Kosten der Verschiedenheit des Versuchsobjektes zu setzen
sind, wenn auch Verschiedenheiten im Verhalten natürlich zu
erwarten sind. Einzelheiten werden später in einer ausführ-
lichen Mitteilung veröffentlicht werden.

Pflanzenphysiologisches Institut Prag.

B e n e c k e , 1898, Botan. Zeitung, Bd. 56.

B o k o r n y 1917, Bakteriolog. Zentralbl., Bd. 47. Dort findet
sich auch eine Literaturzusammenstellung.

K n o p , 1860, Versuchsstation, Bd. 2

M o l i s c h 1895, Sitzungsber. d. Akad. d. Wissensch., Wien,
Mathem.-naturw. Kl. Bd. 104.

M o l i s c h , 1896, Sitzungsber. d. Akad. d. Wissensch. Wien,
Mathem.-naturw. Kl. Bd. 105

P r i n g s h e i m E. G., 1912, Cohns Beiträge z. Biologie d. Pfl.

P r i n g s h e i m E. G., 1918, Ber. d. D. B. G., Bd. 36.

P r i n g s h e i m E. G., 1921, Abderhalden, Handbuch d. biol.
Arbeitsmethoden, Abt. XI., H. 2.

- Sjöberg, 1920, Fermentforschung, Bd. 4.
 Sjöberg, 1922, Diss. Berlin, Springer.
 Woycicki, 1909, Bull. de l'Acad. des scienc. Cracovie.

Gründung einer Entomologischen Sektion des „Lotos“.

Die mannigfachen Schwierigkeiten, die sich bei der Inanspruchnahme auswärtiger Zeitschriften als Verbandsorgan darboten, legten es dem vor zwei Jahren ins Leben gerufenen Entomologenbund für die Čsl. Republik nahe, im Inlande Anschluß an eine wissenschaftlich redigierte Zeitschrift zu suchen, und nachdem in Vorverhandlungen sich gezeigt hatte, daß die Interessen des Entomologenbundes mit denen des Lotos in vieler Hinsicht parallel laufen, wurde bei der am 3. Mai l. J. in Karlsbad abgehaltenen Generalversammlung des genannten Bundes der einhellige Beschluß gefaßt, die Zeitschrift, die vom „Lotos“ herausgegeben wird, zum Vereinsorgan zu erwählen, und gleichzeitig seine Mitglieder zu veranlassen, dem Lotos als Mitglieder beizutreten, um durch ihre Mitarbeit der Zeitschrift in entomologischer Hinsicht das entsprechende Gepräge zu geben, dadurch das Interesse an jenem im Lotos bisher nicht gepflegten Zweige der Zoologie zu heben und dadurch an der Verbreitung naturwissenschaftlicher Kenntnisse, die im Programme unseres „Lotos“ seit jeher gelegen ist, beizutragen.

Die dadurch von selbst sich bildende entomologische Sektion des Lotos, die den vielen übrigen Sektionen nunmehr an die Seite tritt, hat im Rahmen des Gesamtvereines insoferne einen etwas schweren Stand, als ihre Mitgliedschaft sich vielfach, ja überwiegend, nicht aus Berufszooologen zusammensetzt, sondern aus Laien, Liebhabern der Insekten, Züchtern u. dgl. besteht, deren Hauptaugenmerk weniger der wissenschaftlichen Erforschung, als der Aufnahme praktischer Winke beim Sammeln der Insekten, deren Verbreitung und systematischen Gruppierung gilt, so daß, soll der Zweck der Vereinszeitschrift als Organ der Publizistik dieser neuen entomologischen Sektion voll erreicht werden, der Inhalt der einzelnen Artikel sich ziemlich von den bisher im Lotos erschienenen Publikationen wird unterscheiden müssen. —

Mag nun die zusammenfassende, wissenschaftliche Arbeit der berufenen Faktoren auch fernerhin in den Lotosblättern die überwiegende bleiben, so wird es der neuen Sektion wohl tun, wenn sie inmitten dieser Artikel auch ihrerseits ein Plätzchen an der Sonne findet, und diese kleinen Beiträge werden den Mitgliedern der entomol. Sektion für ihre Arbeitsrichtung willkommen sein, ohne den anderen Lesern der Zeitschrift ihren bisherigen gewohnten Lesestoff zu nehmen.

Im Allgemeinen ist auch in der Entomologie das Hauptgewicht auf systematische oder biologische Arbeiten zu legen.

— Nebenher sollen aber auch kleine Notizen in jeder Nummer erscheinen, in welchen die Mitglieder ihre, für interessant gehaltenen, Beobachtungen, und sei dies auch nur in wenigen Zeilen, niederlegen, ihre Erfahrungen bei der Aufzucht der Insekten mitteilen oder neue Methoden des Fangens, Präparierens usw. von Insekten den übrigen Mitgliedern zur Kenntnis bringen. — Es wird erwartet, daß diese Rubrik durch zahlreiche Einsendungen der Mitglieder belebt wird, weil es nur die Menge des hier Gebotenen möglich macht, bei den verschiedenen Zweigen der Entomologie jedem Einzelnen etwas ihn Interessierendes zu bieten.

Eine ständige Rubrik soll den landesfaunistischen Mitteilungen gewidmet sein. — Wir wissen, wie eifrig unsere tschechischen Sammelkollegen bei der Auffindung neuer oder wenigstens für das Land oder die Republik neuer Arten und Formen am Werke sind. Die Beobachtungen im deutschen Teile des Staates sind nicht weniger zahlreich, und es hat nur bisher an einer Zentralstelle gefehlt, wo der Interessent sich orientieren konnte. In dieser Rubrik kann eine solche Zentralstelle erstehen, wenn jeder seine Neufunde gewissenhaft hier zur Kenntnis der Öffentlichkeit bringt.

Wenn, wie beispielsweise für die Schmetterlinge Böhmens oder Mährens, schon bedeutende Vorarbeiten für eine Landesfauna bestehen, so ist nicht zu befürchten, dass Wiederholungen bereits bekannter Feststellungen eintreten, zumal die Angaben aus den einzelnen Insektenordnungen vor der redaktionellen Approbation durch berufene Fachmänner durchgesehen werden sollen.

Nur ein Wunsch der Entomologen ist durch die Wahl des Lotos als Verbandsorgan vorläufig nicht realisierbar, d. i. die Schaffung eines besonderen Inseratenblattes, wo Züchter und Sammler ihr Material zum Tausch oder Kauf anzubieten in der Lage wären. — Dieser nicht unwichtige Wunsch wird der Sektion so lange zur Diskussion und Beratung vorliegen, bis eine auch im Rahmen des Lotos, wenigstens in der Zukunft, zweifellos mögliche Lösung gefunden werden wird.

Wir werden die Arbeiten von Mitgliedern des Entomologenbundes mit fortlaufenden Nummern bezeichnen, um daraus den Umfang der geleisteten Arbeit quantitativ erkennen zu können, beginnen aber mit Nr. 4, nachdem 3 Arbeiten bereits in den letzten Jahren in der Frankfurter Entomologischen Zeitschrift zur Publikation gebracht worden waren.

Einsendungen von Publikationen entomologischen Inhaltes sind an Dr. Jakob Sterneck, Karlsbad, Villa Akazia, zu richten, der nach Durchsicht der Manuskripte dieselben der Redaktion des Lotos zusenden wird.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Lotos - Zeitschrift fuer Naturwissenschaften](#)

Jahr/Year: 1924

Band/Volume: [72](#)

Autor(en)/Author(s): Czurda [Denk] Viktor

Artikel/Article: [Ueber die Kultur von Konjukaten 193-200](#)