

Nachdruck verboten.
Übersetzungsrecht vorbehalten.

Über die Reinkultur von Conjugaten.

(Nachtrag.)

Von

Viktor Czurda (Prag).

Zu meinem Bericht (diese Zeitschrift Bd. 53, 1926) über die Erzielung bakterienfreier Kulturen von fünf Conjugatenvertretern (*Mesotaenium caldariorum*, *Cosmarium Botrytis*, *Zygnema* sp., *Zygnema peliosporum* und *Spirogyra varians*) wurde anhangsweise in einer Berichtigung die Feststellung von Bakterien in einigen Kulturen von *Cosmarium Botrytis*, *Zygnema* sp. und *Spirogyra varians* mitgeteilt. Da damals in der zur Verfügung stehenden, knappen Zeit kein Überblick über die Herkunft der Bakterien und die Tragweite der Beobachtung für die Kulturmethode zu gewinnen war, mußte ich in dieser Berichtigung darauf aufmerksam machen, daß die Versuchsergebnisse dieser drei Algen solange mit einem gewissen Vorbehalt zu behandeln sind, als keine eingehende Untersuchung erfolgt ist. Da diese erfolgreich abgeschlossen ist, mag sie ausführlich behandelt werden.

Da in dem Fadenmaterial mehrerer Agarkulturen von *Spirogyra varians* Bakterien durch Färbung nachgewiesen worden waren, sie damals jedoch in der Kultur auf festem Substrat nur bei stärksten Vergrößerungen (ca. 1000fach) im Leben zu bemerken waren, nicht aber bei 500facher Vergrößerung oder gar makroskopisch, so konnte zunächst die Möglichkeit nicht von der Hand gewiesen werden, daß die Bakterien schon vom Beginn der vermuteten Reinkultur mitgezüchtet worden waren. Nebenher bestand freilich die Möglichkeit

einer nachträglichen Infektion. Da einige Zeit vor dieser Feststellung von Bakterien die anfangs geübte Protokollierung der Kulturen, aus der die Ableitung irgendeines Kulturmaterials hervorging, im Laufe der Untersuchung ihre anfängliche Bedeutung verlor und daher später unterlassen wurde, konnte über die zweite angenommene Möglichkeit einer nachträglichen Infektion keine Sicherheit gewonnen werden. Da auch jetzt der biologische Nachweis von Bakterien mit Hilfe des Bouillonverfahrens negativ ausfiel, die Prüfung mittels Färbung bei ungleichmäßiger Verteilung der Bakterien innerhalb der großen Fadenmassen doch nicht ganz zuverlässig sein konnte, um aus dem damaligen Bestand an Stammkulturen rein befundene als solche zu erkennen, wurde sofort wieder an eine Reinigung geschritten, deren Vorgang schon in der früheren Mitteilung geschildert worden ist. Dazu mußte lebhaft vegetierendes Zellenmaterial in der Nährlösung herangezüchtet werden. Unterdessen wurden die vorhandenen Stammkulturen der drei vorletzten Überimpfungen für die weitere Beobachtung der Bakterien stehen gelassen. Schon die Kulturen der letzten Überimpfung, besonders aber ihre Tochterkulturen zeigten im Alter von 2—3 Wochen bei seitlicher Beleuchtung schon makroskopisch sichtbare Bakterienkolonien. Da auch früher bei seitlicher Beleuchtung die Stammkulturen auf Agar sowohl mikro- als auch makroskopisch stets auf Anwesenheit von Bakterien geprüft worden waren, hätten diese schon früher bemerkt werden müssen. Dazu stellte sich auch plötzlich ein Kränkeln der Fäden auf Agar ein, das soweit ging, daß sich die Fäden auf Agar überhaupt nicht mehr weiter züchten ließen. Das Kränkeln der in Lösung befindlichen Fäden infolge der Veränderung der Nährlösung durch Bakterien wurde durch häufige Übertragung der kleinen Watten in neue Lösungen und mehrmalige Waschungen vor der Übertragung zu verhindern versucht und schließlich durch Verwendung einer mit den schon früher genannten Nährsalzen versehenen Erdalkochungslösung erreicht.

Das herangewachsene Fadenmaterial wurde durch die früher schon beschriebene 15—16 malige Waschung in steriler Nährlösung gereinigt. Wie es sich auch hier wiederum zeigte, handelt es sich bei diesen Waschungen um die Entfernung der Keime aus den adhärierenden Flüssigkeitsmengen. Aber erst eine nochmalige Wiederholung dieser Waschung ergab Fäden, die sich bei weiterer Kultur auf Agar und in Lösungen sowohl bei direkter mikroskopischer als auch bei färberischer und kultureller Prüfung als absolut rein erwiesen haben. Auch diesmal konnte bestätigt werden, daß nur

ein intensiv wachsendes Fadenmaterial mit Erfolg zu verwenden ist. Mit der Entfernung der Bakterien setzte wiederum normales Wachstum ein.

Die Bakterien in den Kulturen von *Zygnema* sp. verhielten sich ebenso. Auch hier gelang es abermals zu reinem Material zu kommen. Ein direkter Nachweis von Bakterien durch mikroskopische Beobachtung ist hier unzuverlässig, da die über die Agaroberfläche fortwachsenden Fäden Schleim hinterlassen, in dem Bakterien nicht sichtbar sind. Hier muß neben der kulturellen Prüfung die mittels Färbung vorgenommen werden.

Aus allem war bei diesen beiden Vertretern der Eindruck zu gewinnen, daß das Auftreten von Bakterien auf eine nachträgliche Infektion zurückgeführt werden muß. Beim keimfreien Arbeiten mit diesen, wie auch den übrigen, fädigen Vertretern macht nämlich eine rasche und geeignete Übertragung der Fäden, auf die in meinem früheren Bericht nicht eingegangen worden war, große Schwierigkeiten, die bis jetzt nicht beseitigt werden konnten. Beim Hervorholen einer kleinen Fadenanzahl pflegen diese bei den anwendbaren Manipulationen nicht zu zerreißen, so daß entweder die ganze Watte oder sehr lange (dezimeterlange) Bündel hervorgezogen werden. Dabei ist meist kaum zu vermeiden, daß das lange Bündel beim Hervorholen oder Eintragen in das Kulturgefäß am Rand des Gefäßes haften bleibt. Zur Entkeimung ist daher ein gutes Abflammen nötig. Vielleicht ist nun bei dieser Gelegenheit die Infektion eingetreten. Sie ist allem Anschein nach bald entdeckt worden, da später eine immer sichtbare Bakterienkolonienbildung eingetreten war.

Während bei *Spirogyra* und *Zygnema* eine nachträgliche Infektion sehr wahrscheinlich ist, ließ sich bei *Cosmarium Botrytis* nichts über die Herkunft der Bakterien feststellen. Die Coccen lagen in verstreuten Gruppen zu 2—6 in Schleim gebettet in der Gallerte des *Cosmariums*. Bei dem zerstreuten Vorkommen der Einschlüsse stand zu erwarten, daß bei guter Isolierung der Zellen voneinander und bei Einschluß in Agar sich *Cosmarium*-Kolonien bilden würden, die wie ihre Ausgangszelle frei von Bakterien sein könnten. Es gelang auch einige reine Kolonien zu finden und von diesen neue, bakterienreine Stämme zu gewinnen. Im Agar dieser Platten selbst sind auch nach 1 $\frac{1}{2}$ monatlicher Dauer keine Bakterienkolonien selbst bei mikroskopischer Beobachtung sichtbar geworden.

Der Einfluß der Bakteriengenwart auf die früheren Versuchsergebnisse konnte kein großer sein, selbst bei der Annahme, daß

eine Reinigung erst jetzt erfolgt wäre, da es vorderhand nur qualitative Untersuchungen waren. Die Versuche, den Kohlenstoffbedarf aus organischen Verbindungen decken zu lassen, sind alle so eindeutig negativ verlaufen (siehe PLANTA 1926, zurzeit in Vorbereitung), daß der Einfluß von Stoffwechselprodukten anderer Organismen gar nicht in Frage kommt. Höchstens die Stickstoffversuche hätten beeinflußt werden können. Es ließ sich indessen kein Unterschied dieses sicher reinen Materials gegenüber den früheren beobachten, so daß die früher gemachten Angaben volle Geltung beibehalten.

Unterdessen ist es gelungen, weitere Vertreter rein zu züchten. *Cosmarium impressulum* wurde bereits in der Berichtigung genannt. Neuestens gelangt die absolute Reinkultur bei einer zweiten *Spirogyra*-Art. Da die Bestimmung am Rohmaterial an dem in Kultur befindlichen Material bisher nicht nachgeprüft werden konnte, ist die Bestimmung als *Spirogyra tenuissima* nicht ganz zuverlässig. Somit liegen zurzeit sieben Vertreter der Conjugaten in gut gedeihender, bakterienreiner Kultur vor.

Pflanzenphysiologisches Institut der Deutschen Universität
Prag II, Viničná 3a.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Archiv für Protistenkunde](#)

Jahr/Year: 1926

Band/Volume: [54_1926](#)

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

Artikel/Article: [Über die Reinkultur von Conjugaten 355-358](#)