

# Zur Bedeutung und Technik der Reinkultur für Systematik und Floristik der Algen.

Von Fritz von Wettstein.

(Kaiser Wilhelm-Institut für Biologie, Berlin-Dahlem.)

Über Reinkulturen von Algen und die hiezu geeignete Methodik ist bereits eine umfangreiche Literatur vorhanden, die von Küster (2) und O. Richter (5) übersichtlich zusammengefaßt wurde. Zweck dieser Zeilen soll sein, zu zeigen, in welcher Weise diese Methodik richtig angewendet für die Systematik und Floristik der Algen Bedeutung gewinnen kann. Bisher wurden Reinkulturen von Algen meist nur für physiologische, vor allem ernährungsphysiologische Untersuchungen verwertet (Pringsheim, 4) und auf diesem Wege sehr wertvolle Ergebnisse erhalten. Chodat (1) und seine Schüler haben eingehende Arbeiten zur Systematik schwieriger Algengruppen auf Grund von Reinkulturen durchgeführt und gezeigt, wie aussichtsreich dieser Weg ist.

In der systematischen Durcharbeitung der niederen Algen macht sich noch immer unsere geringe Kenntnis der Variationsweiten der fraglichen Formen, ihrer Abhängigkeit von Außenbedingungen sehr fühlbar. Hier kann nur, wie oft betont, durch experimentelle Untersuchungen auf Grund von Reinkulturen Klarheit geschaffen werden. Ein Monograph wird nur gestützt auf ein umfangreiches Material von Reinkulturen der betreffenden Arten imstande sein, vergleichende Untersuchungen anzustellen, die Variationsweiten festzustellen und so eine wirkliche systematische Durcharbeitung auszuführen. Daß hiefür Präparatensammlungen nicht genügen, liegt in der Natur der Objekte, um von der früher üblichen Methode des Herbariums dieser Gruppen ganz abzusehen, besonders wenn es sich um die Verwertung neuer, vor allem zytologischer und physiologischer Merkmale handelt. Dann erst wird man nicht nur auf Zufallsfunde angewiesen sein, auf wenige Zellen bei seltenen Arten oder gar nur auf Abbildungsmaterial der bisher beschriebenen Arten, sondern man kann jede Form in ihren Entwicklungsstadien, ihrer Variationsweite, ihren verschiedenen Organisationsformen studieren und man wird künftig weit mehr als dies bisher geschehen ist, zur Unterscheidung und Charakterisierung auch bei Algen physiologische Merkmale und solche, die aus dem verschiedenen Habitus des Kulturbildes zu gewinnen sind, heranziehen können, wie dies bei Bakterien und Pilzen schon lange geschieht.

Wenn man floristische Bearbeitungen durchsieht, so zeigt sich, daß gewisse Gruppen in den Artenlisten immer wiederkehren und überall in ähnlichen oder gleichen Typen vertreten sind, während andere selten oder gar nicht angegeben werden. Daraus den Schluß zu ziehen, die

Algenformationen seien in ihrer Zusammensetzung stark einförmig, ist sehr voreilig. Die in allen Standortlisten immer stark hervortretenden Gruppen sind Diatomaceen, Desmidiaceen und Protococcaceen, außerdem natürlich fadenbildende Formen, immer Typen, die durch die chemische Beschaffenheit der Membranen (Verkieselung, ausgeprägte Zellulosemembranen usw.) in allen Aufsammlungen auch bei scheinbarer Fixierung bestimmungsfähig erhalten bleiben. Dagegen sind alle Flagellaten und Chlamydomonadaceen wegen ihrer geringen Resistenzfähigkeit meist sehr stiefmütterlich behandelt, ferner aus anderen Gründen jene Gruppen, in denen „grüne Coccen oder Kügelchen“ in irgend einer Entwicklungsphase vorkommen, weil diese Stadien keinerlei Anhaltspunkte für die systematische Einreihung bieten, welcher Umstand gerade bei Chlamydomonadaceen, *Tetrasporales* und vielen *Protococcales* eine wesentliche Bedeutung für die Unklarheit dieser Gruppen hat. Es ist nicht immer möglich, ergänzende Untersuchungen am lebenden Material an Ort und Stelle auszuführen. Für die Beurteilung der Algenformationen aber ist es sehr wesentlich, ob sie aus gewissen, überall wiederkehrenden Leitformen allein bestehen, was dann den Eindruck der Gleichförmigkeit macht, oder ob außer diesen Formen noch andere auf den ersten Blick zurücktretende Typen vorhanden sind, die erst die Unterschiede erkennen lassen und die verschiedenen Algenformationen charakterisieren.

Damit eine geeignete Methodik hier eingreifen kann, muß sie dreierlei Anforderungen entsprechen. Sie muß erstens durch Anreicherung gerade jener seltenen oder leicht übersehbaren Formen uns auf diese aufmerksam machen, und zweitens muß sie jene Entwicklungsstadien, die nicht ohne weiteres klassifizierbar sind, kontrollierbar in solche überführen, die eine Bestimmung ermöglichen. Drittens muß die Methode so ausgearbeitet sein, daß mit ihr unter Umgehung jeder Fixierung direkt am Standort gearbeitet werden kann und daß doch relativ viele Formen beobachtet werden können, ohne die Apparatur ins Ungemessene zu vergrößern. Ich bin seit einigen Jahren bestrebt, eine solche Methodik auszuarbeiten und diese Versuche seien im folgenden mitgeteilt. Schon aus den eben gestellten Forderungen ergibt sich, daß man nicht verlangen kann, daß eine Universal-Arbeitsweise allen diesen Anforderungen gleichmäßig gerecht wird, jede Methodik wird nach dieser oder jener Richtung hin vervollständigt und abgeändert werden müssen und den besonderen Bedürfnissen im Einzelfalle anzupassen sein.

Ich will von einer kurzen Übersicht über jene Formen ausgehen, deren Züchtungsmöglichkeit bereits erwiesen und genauer geprüft ist. In allen meinen Angaben beziehe ich mich nur auf Süßwasseralgen. Im Prinzipie gelten dieselben Forderungen auch für die Systematik.

mariner Algen, insbesondere für einzelne Gruppen, wie z. B. Flagellaten. Doch konnte ich hierüber keine Erfahrungen sammeln. Von den Süßwasserformen sind in dieser Hinsicht am besten die Protococcaceen, Diatomaceen und Schizophyceen bearbeitet. Desmidiaceen untersuchte Pringsheim (3), wenig oder gar nicht bearbeitet sind Flagellaten und Chlamydomonadaceen. Es mußten also vorerst für diese Gruppen Kulturbedingungen gefunden werden. Dies ist nicht im entferntesten für alle erreicht. Hier sei nur erwähnt, daß es für eine Anzahl Cryptomonaden, vor allem *Cryptomonas ovata* Ehrenbg., gelang, schöne, allerdings noch nicht bakterienfreie, Reinkulturen zu erzielen, ferner daß von Chrysoomonaden sich *Uroglena volvox* Ehrenbg., *Synura uvella* Ehrenbg., *Mallomonas*-Arten und einige andere züchten lassen. Von Euglenaceen wachsen die meisten *Euglena*-Arten, allen voran *E. gracilis* Klebs, die schon früher untersucht wurde (Pringsheim, 4, und die dort angegebene Literatur), und *Phacus*-Arten; die Kultur von *Trachelomonas* gelang mir noch nicht. Alle diese Formen lassen sich auf dem von mir im folgenden als „Torf-Agar“ bezeichneten Nährboden züchten. Auf alle hier nicht mitgeteilten Details über den Gang der Untersuchung bei den einzelnen Arten behalte ich mir vor, bei Bearbeitung der betreffenden Formen mit Hilfe von Reinkulturen an anderer Stelle zurückzukommen. Für Chlamydomonadaceen hat Hartmann<sup>1)</sup> in der von Benecke (Küster, 2, S. 120) angegebenen Lösung ein sehr geeignetes Nährsubstrat gefunden, daß auch zu Agar verarbeitet für *Volvocales* überhaupt einen ausgezeichneten Nährboden darstellt. Viel beschäftigte ich mich auch mit Desmidiaceen, deren Kultur bei fast allen von mir geprüften Arten, darunter Vertreter der meisten Gattungen, auch *Micrasterias*, *Euastrum*, *Desmidium* usw. (eine Ausnahme macht bisher *Spirotaenia*) auf dem genannten „Torf-Agar“ leicht gelingt. Für alles weitere über die Methodik der bereits kultivierten Formen verweise ich auf die Zusammenstellung bei Küster (2, S. 100 ff, 106 ff.). Nach vielen Versuchen erwies sich auch für die früher oft geprüften Gruppen der kurz als „Benecke-Agar“ bezeichnete Nährboden zur Anreicherung von *Protococcales*, *Tetrasporales* und Schizophyceen, die teils auch auf „Torf-Agar“ ausgezeichnet wachsen, sehr geeignet. Auch die meisten Diatomaceen wachsen auf einem dieser beiden Substrate üppig, darunter auch große Formen, wie *Pinnularia*, große *Cymbella*-Arten, die besonders auf „Torf-Agar“ gut gedeihen.

Damit war die Möglichkeit gegeben, einen hohen Prozentsatz der an einem zu analysierenden Standort vorhandenen Formen weiter zu

<sup>1)</sup> Für diese und eine Reihe anderer hier veröffentlichter Mitteilungen sage ich Herrn Professor M. Hartmann auch an dieser Stelle meinen besten Dank.

züchten. Werden solche Algenmaterialien in sehr dünner Verteilung auf die Oberfläche von Agar gebracht, welcher in dünner Schicht in Petrischalen gegossen und erstarren gelassen wurde, so entwickeln sich nach etwa 10—15 Tagen mit mehr oder weniger langen Teilungsraten an jenen Stellen kleine Kolonien, wo eine einzelne Zelle irgend einer Art gelegen ist, wodurch man leicht auf sonst vereinzelte Formen aufmerksam wird. In kurzer Zeit hat man von vielen Arten ein reiches Material zur Verfügung. Solche Kolonien übertrage ich, wenn sie genügend groß geworden sind, mit einer Platinnadel in Reagenzröhrchen, die mit demselben Agar beschickt sind, diese Röhrchen läßt man ruhig an nach der Nordseite gelegenen Fenstern stehen, es entwickeln sich dann die betreffenden Algen reichlich. Wenn man dünn ausgesät hat, kann man schon nach dem ersten Übertragen Reinkulturen erhalten, die außer Bakterien nur die bestimmte Alge enthalten, sonst ist dieses Verfahren wie üblich mehrmals zu wiederholen. Absolute Reinkulturen sind bei den meisten Formen sehr schwer zu erzielen, doch für den Systematiker liegt darin kein Hindernis. Spezieskulturen, die von Algen nur das Gewünschte enthalten, genügen vollkommen. Wenn es nicht darauf ankommt, die einzelnen Formen dauernd für Vergleichszwecke und monographische Studien zu erhalten, wird man sich meist schon mit den auf der ersten Agar-Platte auftretenden Kolonien begnügen können. Ich habe auf diese Weise bei Bearbeitung von Algenaufsammlungen aus Tirol sehr wertvolle Ergänzungen erhalten. Gerade bei Gattungen wie *Clamydomonos*, *Chlorella*, *Scenedesmus* und vielen andern führte nur diese Methode zu klaren Resultaten. Die Möglichkeit der viel gründlicheren Durcharbeitung erwies sich also auf diesem Wege gegeben, und wer nicht einige Mühe scheut, wird die Brauchbarkeit und die Fortschritte dieser Methodik jederzeit bestätigen können.

Als zweite Forderung war zu prüfen, wie die gerade aufgesammelten, nicht erkennbaren Stadien in bestimmbare übergeführt werden können. Häufig erkennt man bereits an der Anordnung der Kolonien, der Art und Weise, wie sich aus solchen unbestimmbaren Einzelzellen in der Kultur sich entwickelnde Zellen zu Verbänden vereinigen, die Zugehörigkeit der betreffenden Art. Oft aber ist dies auch bei lebhafter Vermehrung auf dem Agar nicht möglich, doch da die fragliche Form jetzt zahlreich vorhanden ist, läßt sich meist durch einfache Manipulationen irgendein erkennbares Entwicklungsstadium erreichen: durch Überführen vom Agar in eine Nährlösung, durch Austrocknen und Wiederbefeuchten usw. Dabei kann man bei reiner Arbeit jeden Fehler, der durch Kombination von nicht zusammengehörigen Entwicklungsstadien häufig vorkommt, vermeiden.

Schließlich mußte die Arbeitsweise auf das einfachste einzurichten sein. Dazu dienten die bereits erwähnten Versuche, Nährsubstrate zu finden, die in möglichst geringer Zahl vollständig ausreichen, und nach meinen Erfahrungen wird der Systematiker mit den beiden genannten Nährböden meist vollständig auskommen. Die Zusammensetzung ist folgende:

Benecke-Lösung:	$\text{NH}_4\text{NO}_3$	. . . . .	0·2 g
	$\text{Ca Cl}_2$	. . . . .	0·1 "
	$\text{K}_2\text{HPO}_4$	. . . . .	0·1 "
	$\text{Mg SO}_4$	. . . . .	0·1 "
	$\text{Fe}_2\text{Cl}_6$	. . . . .	1 Tropfen einer 1% Lös.
	$\text{H}_2\text{O}$ , destilliert	. . . . .	1000 g
Summe der mineralischen Bestandteile		. . . . .	0·5 g oder 0·05%

Mit dieser Lösung wird durch Zusatz von 10 g sehr gut ausgewaschenem Agar eine 1% ige Gallerte bereitet, die sterilisiert in Petrischalen ausgegossen und erstarren gelassen wird. (Näheres über die Herstellung solcher Agar-Platten bei Küster, 2, S. 28 ff.)

Als zweite Lösung sei folgende empfohlen:

Lösung A:	$(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4$	. . . . .	0·2 g
	$\text{Mg SO}_4$	. . . . .	0·05 "
	$\text{Ca Cl}_2$	. . . . .	0·05 "
	$\text{Ca SO}_4$	. . . . .	0·05 "
	$\text{K}_2\text{HPO}_4$	. . . . .	0·05 "
	$\text{Fe}_2\text{Cl}_6$	. . . . .	wie oben
	$\text{H}_2\text{O}$ , destilliert	. . . . .	1000 g
Summe der mineralischen Bestandteile		. . . . .	0·4 g oder 0·04%

Lösung B. 250 g Torf wird mit 1000 g  $\text{H}_2\text{O}$  einige Stunden ausgekocht; je nach Art des Torfes gibt dies filtriert eine  $\pm$  dunkelbraune Lösung, die zu einer hellkaffeebraunen zu verdünnen ist. Lösung A und B werden dann zu gleichen Teilen gemischt und gleichfalls zu einem 1% Agar verarbeitet. Es kann dabei nicht genug betont werden, daß vollständige Reinheit aller verwendeten Materialien und Glassachen Bedingung ist. Dies gilt nicht nur für alle verwendeten Substanzen, vor allem auch für das destillierte Wasser, das wirklich einwandfrei durch Destillation in Jenenser Glas erhalten werden muß. Der käufliche Agar muß mehrere Tage in fließendem Wasser, dann noch gründlich in destilliertem Wasser ausgewaschen werden, wodurch verschiedene, das Wachstum der Algen hemmende Stoffe ausgelaugt werden. Die Konzentration der Lösung soll 0·05%, die des Agars nach meinen Erfahrungen 1% nicht übersteigen. Ich verwende mit Erfolg noch zwei Verdünnungen, etwa 0·5% und 0·2%, wobei letztere eine kaum noch

erstarrende Gallerte gibt. Doch sind für große Algenformen, wie *Micrasterias*, *Pinnularia*, solche Konzentrationen viel günstiger. Dabei dürfte der in so schwacher Konzentration vorhandene Agar noch alle in geringsten Mengen enthaltenen Giftstoffe an sich ziehen, weshalb solche stark verdünnte Agarsubstrate reinen Lösungen vorzuziehen sind. Das als „Torf-Agar“ vorgeschlagene Substrat enthält viel fördernd wirkende organische Stoffe, ohne Bakterien- und Pilzentwicklung überhand nehmen zu lassen. Es ist wichtig, daß die mit Algenmaterial beschickten Schalen gutem Licht ausgesetzt werden, wodurch das Wachstum sehr gefördert wird, dagegen ist direkte Sonnenbestrahlung zu vermeiden.

Daß gerade die Mängel, die fixiertes Material an sich hat, bei Aufsammlungen auf größeren Exkursionen besonders fühlbar werden, ist klar. Die angegebenen Nährböden lassen sich aber leicht in Flaschen fertig mitführen, das Auflösen des Agar-Agar kann überall erfolgen und an Ort und Stelle so das gesammelte Material auf die Platten gebracht werden. Ich arbeitete auf meinen Exkursionen in Tirol in dieser Weise und habe oft Formen erhalten, die ich weder in gut fixiertem Material noch auch in längere Zeit lebend in Fläschchen aufbewahrt und dann erst auf Agar gesättem Materiale beobachten konnte. Doch auch in solchen Fällen, wo ein sofortiges Aussäen nicht möglich war, erhielt ich doch noch immer gute Resultate; aus solchen Materialien lassen sich, selbst wenn diese während des Transportes in Fäulnis übergegangen sind, auch dann noch eine große Zahl von Formen herauszüchten, die fixierte Aufsammlungen ergänzen. Im heurigen Sommer erhielt ich durch die Freundlichkeit meines Bruders eine Anzahl Algenaufsammlungen aus Abisko in Schwedisch-Lappland. Diese waren zwei Monate in verschlossenen Gläsern und daher in Fäulnis übergegangen. Auf Agar-Platten der beiden angegebenen Nährböden ausgesät erhielt ich Flagellaten, Desmidiaceen, Chlamydomonadaceen, Protococcaceen in großer Fülle, die das gleichzeitig gesammelte, fixierte Material gut ergänzten.

Doch darf man die Schwierigkeiten dieser Methodik nicht gering schätzen. Die Arbeiten sind sehr mühsam, erfordern Geduld und auch einige Apparatur. Trotzdem glaube ich, daß sich alle diese Aufwendungen lohnen, daß dadurch einige der eingangs erwähnten Hindernisse der Algen-Systematik beiseite geräumt werden können und wir der genauen Kenntnis vieler dieser Formen auf diesem Wege näher kommen können. Um wirklich vollkommen brauchbar zu werden, muß diese Methodik freilich noch weiter erprobt, abgeändert, vervollständigt und vertieft werden.

Berlin-Dahlem, am 22. November 1920.

### Literatur.

Es sind nur einige der wichtigsten Arbeiten angeführt, von denen ausgehend die weitere Literatur zugänglich ist.

1. Chodat, R., Monographie d'Algues en culture pure. Materiaux pour la flore cryptogamique suisse. Vol. IV., fasc 2., 1913.
2. Küster, E., Kultur der Mikroorganismen. 2. Aufl., 1913.
3. Pringsheim, E. G., Die Kultur der Desmidiaceen. Ber. d. d. bot. Ges., 36, 1919.
4. Derselbe, Kulturversuche mit chlorophyllführenden Mikroorganismen. I., II., III., IV. Mitt., Cohns Beitr. z. Biol. d. Pflanzen. Bd. 11 und 12, 1913 und 1914.
5. Richter, O., Die Reinkultur und die durch sie erzielten Fortschritte, vornehmlich auf botanischem Gebiete. Progressus rei botanicae. 4, 1913.

## Über einige *Centaurea*-Arten der adriatischen Küsten und Inseln<sup>1)</sup>.

### II. Zur Kenntnis der Systematik und geographischen Verbreitung des Formenkreises von *Centaurea Friderici* Vis. und *Centaurea crithmifolia* Vis.

Von August Ginzberger (Wien).

Mit einem Beitrag von Alfred Burgerstein.

(Mit 7 Textabbildungen.)

*Centaurea Friderici* Visiani und *Centaurea crithmifolia* Visiani gehören zu den schönsten und interessantesten Arten dieser formenreichen Gattung. Ihre systematisch ziemlich isolierte und daher strittige Stellung innerhalb des Genus *Centaurea* läßt dieses Interesse als berechtigt erscheinen, und ihr räumlich außerordentlich beschränktes Vorkommen auf zwei landfernen Eilanden der Adria, Pelagosa piccola und Pomo, verleiht ihnen den Reiz schwieriger Erreichbarkeit und großer Seltenheit: *C. Friderici* Vis. wächst an beiden Orten, *C. crithmifolia* Vis. nur auf Pomo.

Beide Arten sind lange bekannt: Schon Visiani hat sie im II. Bande seiner „Flora Dalmatica“ (S. 40), der 1847 erschien, beschrieben; er benannte erstere nach König Friedrich August II. von Sachsen, der im Jahre 1838 mit B. Biasoletto eine in Denkmälern und Überlieferungen der bereisten Länder heute noch fortlebende botanische Reise nach Istrien und Dalmatien unternommen hat; nach dem Doppelnamen des Paten der Pflanze wird sie hie und da fälschlich als *C. Friderici Augusti* bezeichnet, so auf einigen von den zum Teil gedruckten Etiketten zur Ausbeute von C. Marchesetti (1877). Der Name der anderen Art bezieht sich auf die Ähnlichkeit ihrer etwas fleischigen, kahlen Blätter mit denen von *Crithmum maritimum*, das an beiden Standorten mit den *Centaurea*-Arten vorkommt.

<sup>1)</sup> Vergl. Jahrg. 1920, Nr. 4—6, S. 89—110.

# ZOBODAT - [www.zobodat.at](http://www.zobodat.at)

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Österreichische Botanische Zeitschrift = Plant Systematics and Evolution](#)

Jahr/Year: 1921

Band/Volume: [070](#)

Autor(en)/Author(s): Wettstein Friedrich [Fritz]

Artikel/Article: [Zur Bedeutung und Technik der Reinkultur für Systematik und Floristik der Algen. 23-29](#)