Methodik

Objekttyp: **Chapter**

Zeitschrift: **Beiträge zur Kryptogamenflora der Schweiz = Matériaux pour la flore cryptogamique suisse = Contributi per lo studio della flora crittogama svizzera**

Band (Jahr): **8 (1933)**

Heft 1

PDF erstellt am: **28.05.2024**

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.
Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.
Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Ein Dienst der *ETH-Bibliothek*
ETH Zürich, Rämistrasse 101, 8092 Zürich, Schweiz, www.library.ethz.ch

http://www.e-periodica.ch

Methodik

Schon G. Klebs (1896) stellte als die drei unerlässlichen Forderungen einer erfolgreichen Bearbeitung der Algen auf:

1. die Reinkultur der in Frage kommenden Organismen, 2. die direkte Beobachtung und 3. die genaue Kenntnis der Bedingungen, unter welchen die einzelnen Entwicklungsstadien eintreten, oder der Uebergang der einen Form in die andere stattfindet. Diesen Forderungen wurde, soweit das zur Verfügung stehende Algenmaterial dies erlaubte, in vollem Umfange nachgelebt.

Sämtliche in der vorliegenden Arbeit beschriebenen Algen, von denen lebendes Material beschafft werden konnte, wurden in absoluten Reinkulturen untersucht. Leider war dies nicht möglich für die zuerst von Schmidle beschriebene Art *Coccomyxa dispar*, die als schleimiger Ueberzug auf Moosen in der Gegend von Heidelberg (im Jahre 1900) gefunden worden war. Meine sämtlichen Versuche, diese Alge in der Natur wiederzufinden, verliefen erfolglos, bis, als die vorliegende Arbeit bereits im Druck war, einer meiner Schüler, Herr E. Thomas, stud. rer. nat., die interessante Alge in der Nähe von Zürich entdeckte. So konnte auch diese Art wenigstens in lebendem und in gutfixiertem Zustande mit den übrigen Arten mikroskopisch untersucht werden, und da sie in reichlicher Menge zur Verfügung stand, so dürfte auch dieser Vergleich von Interesse sein, um so mehr als, wie im Nachfolgenden gezeigt werden soll, dieser Vergleich zu einer Klärung der Systematik der Gattung beitrug.

Leider war es nicht möglich, irgendwelches Material zu beschaffen von der von A. Pascher aufgestellten Art *Coccomyxa subglobosa*. Solches scheint nach einer schriftlichen Mitteilung von Herrn Prof. Dr. A. Pascher (Prag) weder in lebendem noch in fixiertem Zustande aufbewahrt worden zu sein. Wir sind daher auf die wenigen Angaben angewiesen, die der Autor über diese Art gegeben hat.

Jede der beschriebenen Kulturen stammt von einer einzigen Zelle. Solche Zellen wurden isoliert mittels des Mikromanipulators nach einer Methode, wie ich sie in einer früheren Arbeit (1929) im einzelnen beschrieben habe. In sehr feinen sterilisierten Mikropipetten wurden einzelne Algen im mikroskopischen Feld (im hängenden Tropfen) ausgewählt und aufgefangen, hierauf durch Ueberführung durch eine

Reihe einzelner Tropfen sterilisierten Wassers von Bakterien und anderen Unreinigkeiten befreit und sodann in sterilisierte Nährmedien übertragen. Auch die Gewinnung des Gonidienmaterials erfolgte nach der früher (1929) beschriebenen und für die Gattung *Parmelia* angewandten Methode, mit dem Unterschiede freilich, dass bei den *Coccomyxa*gonidien die grünen Zellen nicht zuerst von anhaftenden Hyphen des Flechtenpilzes befreit werden mussten, wie dies bei den Gonidien der meisten anderen Flechtengattungen der Fall ist. Denn, im Gegensatz zu den Flechten mit *Cystococcus*- und *Pleurococcus*gonidien, sind bei den Gattungen *Peltigera, Solorina* und *Icmadophila* nur äusserst selten grüne Algenzellen zu beobachten, die mit einem Stück des Flechtenpilzes zusammenhängen. Die Gonidien scheinen vielmehr bei *Peltigera* und *Solorina* in hohlkugeligen Behältern im Hyphengewebe mehr oder weniger frei nebeneinander zu liegen, und es ist eine Aufgabe für sich, die Art und Weise des Austausches von Nährstoffen zwischen Alge und Pilz in diesen Flechtenthalli zu untersuchen.

Besondere Sorgfalt war vor der Aussaat der Gonidien der Reinigung der Thallusoberfläche zu widmen, da epiphytische, also nicht zur Flechtengemeinschaft gehörige Algen, in grosser Zahl dort vegetieren.

Für die Kultur der Algen wurde als Nährmedium allermeist Knopsche Nährlösung verwendet von der Zusammensetzung :

H_2O	1000,0 g
$Ca(NO_3)_2$ . . .	1,0 g
$MgSO_4$	0,25 g
KCl	0,25 g
KH_2PO_4 . . .	0,25 g
$FeCl_3$	Spuren.

Diese Lösung wurde auf ⅓ verdünnt und teils flüssig, teils durch Zusatz von 1,5 % Agar-Agar in festem Zustande verwendet. Entsprechend den durchzuführenden Versuchen wurde der mineralischen Stammlösung Glucose oder Pepton in verschiedenem Verhältnis und verschiedener Konzentration beigegeben. Die Sterilisation erfolgte durch Erhitzung an drei aufeinanderfolgenden Tagen während jeweils 1 Stunde auf 98° C. Sämtliche Versuche wurden in je 10 parallelen Reihen durchgeführt. Diese Methode erlaubte in weitgehendem Masse, Zufallsresultate auszuschliessen und eine genügende Zahl von Einzelergebnissen zu erhalten für die Berechnung der Mittelwerte.

Handelte es sich um die Ermittlung der Masse einer unter bestimmten Bedingungen gewachsenen Alge, so wurde der Inhalt jedes Versuchskolbens (immer 10 Kolben je Versuch) während 30 Minuten bei 3000 Touren zentrifugiert (Algen auf festen Nährböden wurden zu diesem Zwecke in Wasser aufgeschwemmt). Da die Zentrifugier-

gläschen nach unten verjüngt und zugleich mit einer Meßskala versehen waren, so konnte auf diese Weise die Menge des frischen Algenmaterials in cm^3 unmittelbar abgelesen werden. Die so erhaltenen Werte ergaben aber nicht ein absolutes Mass für die Menge der bei den verschiedenen Klonen auf einem bestimmten Nährboden entwickelten Algenmasse, da das Material verschieden dicht ineinanderlag, je nach dem Grade der Schleimbildung der verschiedenen Arten. Es wurde deshalb immer gleichzeitig auch das Trockengewicht bestimmt, indem die Zentrifugiergläschen (vor der Einfüllung bei 103° C getrocknet und gewogen) mit den Algen wiederum getrocknet und gewogen wurden. Aus der Gewichtsdifferenz ergab sich sodann ein absolutes Mass für die Menge der gebildeten Algen. Auf festen Nährböden wurde zum Vergleich der Wachstumsintensität überdies in sämtlichen 10 Parallelkulturen der Durchmesser der Kolonie gemessen und daraus der Mittelwert und der mittlere Fehler berechnet.

Die Farbe der Kolonien auf festen Nährböden wurde mit den Nummern im Code des couleurs von Klincksieck et Valette (1908) angegeben.

Die variationsstatistische Bearbeitung erfolgte ebenfalls nach einheitlicher Methode. Ein zwischen Objektträger und Deckgläschen eingeschlossenes Algenmaterial wurde mittelst des Edingerschen Zeichenapparates mit möglichst starker Vergrösserung auf einen Tisch projiziert; die Konturen wurden mit hartem Bleistift nachgezeichnet und nachher ausgemessen. Die Variationskurven beruhen auf der Messung von je 200 Algenzellen. Mittelwert und Streuung wurden nach den Formeln von Johannsen (1926) berechnet:

$$\text{Mittelwert: } M = \frac{\Sigma p\, a}{n}; \quad \text{Streuung: } \sigma = \pm\sqrt{\frac{\Sigma p\, D^2}{n}}$$

a = Klassenwerte,
p = Frequenz der einzelnen Klassenwerte,
n = Gesamtzahl aller Individuen,
D = Abweichung vom Mittelwert.

Die Grössenverhältnisse der Zellen eines bestimmten Algenmaterials sind spezifisch für bestimmte Ernährungsbedingungen. Aus dieser Tatsache ergibt sich die Frage: Welches Nährsubstrat soll gewählt werden zur Feststellung der Variationskurven? In meiner Arbeit (1929) über *Parmelia-* und *Cladonia*gonidien verwandte ich als Standardmedium für sämtliche biometrischen Messungen ⅓ Knop + 2 % Glucose. Diesen Nährboden wählte ich, weil er sich für sämtliche in die Untersuchungen einbezogenen Algen, aber auch für die über-

wiegende Mehrzahl anderer Algentypen, wenn nicht als ein optimales, so doch als ein gut zusagendes Substrat herausgestellt hatte. Er lässt sich auch leicht, immer und überall in genau derselben Zusammensetzung herstellen und damit ist für jeden Algologen nicht nur die Möglichkeit gegeben, die Angaben jederzeit nachzuprüfen, sondern auch auf dieser Grundlage weiterzubauen und in objektiver Weise neue Untersuchungen den früheren gegenüberzustellen. Hätte ich z. B. Knop-Glucose-Pepton verwendet, einen Nährboden, der vielen Algen ebenfalls zusagt, so hätte das schon den Nachteil gehabt, dass die Herstellung eines durchaus einheitlichen derartigen Substrates in verschiedenen Ländern weniger leicht möglich wäre, da Peptone verschiedener Herkunft (Pepton Witte, P. Merk, P. Siegfried) nicht genau dasselbe sind und daher auch nicht vergleichbare Versuchsresultate ergeben können. Dies zeigt sich immer, wenn Pepton verschiedener Firmen nebeneinander zur Verwendung gelangt.

Ed. Frey (1932) hielte es für richtiger, statt, wie ich es tat, für den Vergleich von Variationskurven Material zu wählen, das unter denselben Wachstumsbedingungen sich entwickelt hatte, solches als Kulturmedium zu wählen, das für jede der zu vergleichenden Arten oder Rassen die optimalen Ernährungsbedingungen darstellt. Ed. Frey drückt das folgendermassen aus (siehe Frey S. 194) :

« Jaag (1929, S. 91) hat versucht, die Spezifizität in biometrischen Kurven darzustellen. Er macht selber vorsichtige, einschränkende Bemerkungen zu seinen Zusammenstellungen. Man muss sich fragen, ob man wirklich Messungen von verschiedenen Arten, gewonnen auf genau demselben Substrat, verwenden kann, um die Grösse der spezifischen Distanz festzustellen. Sollte man nicht eher von jeder Algenart die optimalen Nährmedien suchen und dann erst diese optimalen Ergebnisse miteinander vergleichen ? Dasselbe lässt sich nicht nur für den biometrischen Vergleich, sondern überhaupt für den Vergleich von Eigenschaften von Reinkulturen auf gleichen und verschiedenen Substraten einwenden. Uebertragen wir diese Forderung auf Experimente mit Blütenpflanzen, so kommt sie uns wohl etwas selbstverständlicher vor.

Wollen wir beispielsweise die spezifischen Unterschiede der Rassen von *Carex ferruginea* und *Carex sempervirens* miteinander vergleichen, so dürfen wir kaum die Rassen der beiden nahe verwandten Arten auf den gleichen Böden ziehen, sondern die Rassen der *C. ferruginea* auf einem frischen, kalkhaltigen, die Rassen der *C. sempervirens* auf einem saureren Boden. Die Rassen der beiden Arten werden sich nur in den ihnen zusagenden optimalen Bedingungen in typischer Weise voneinander differenzieren. »

Das Beispiel von *Carex ferruginea* und *C. sempervirens* hat zweifellos auf den ersten Blick etwas Ueberzeugendes. Für Mikroorganismen, wie z. B. die Grünalgen, um die es sich in der vorliegenden Arbeit handelt, wäre aber diese Methode keineswegs zu empfehlen. Denn das würde zu derart komplizierten Dingen führen, dass die Angaben verschiedener Forscher kaum mehr verglichen, noch weniger kontrolliert werden könnten. Was heisst zunächst : optimale Nährmedien ? Wäre darunter dasjenige zu verstehen, in dem die Alge das rascheste oder üppigste Wachstum zeigt ? Oder wäre das Substrat zu verwenden, das die schönsten und grössten Zellformen zur Entwicklung bringt; oder kommt der Nährboden in Frage, in dem die Algenzellen den in der Natur beobachteten Formen am nächsten stehen ? Ueber diese Frage müsste man sich zunächst einigen. Die Entscheidung wäre gar nicht leicht. Denn, entschieden wir uns z. B. für den Nährboden, der die grössten, bestausgebildeten Zellen hervorbringt, so wählten wir z. B. für unsere *Coccomyxa* N° 68 eine Flüssigkeit von Knop ⅓ + 2 % Glucose + 5 % Pepton. Ein Vergleich der verschiedenen systematischen Einheiten in dieser Flüssigkeit liesse sich durchführen; aber die Formen gleichen dann so wenig den in der Natur beobachteten, dass man dieses Nährsubstrat doch lieber beiseite lassen würde. Ueberdies hat eine so rasch wachsende Kultur eine kurze Lebensdauer. Nach 2—3 Monaten hört jede Entwicklung auf; es treten Mast- und Degenerationsformen auf und der Chromatophor wird immer mehr reduziert. Ein Vergleich wäre dann schwer. Eine andere Einheit hätte die optimalen Entwicklungsbedingungen in Knop ⅓ + 2 % Glucose (d. h. in bezug auf die gewählte Eigenschaft : Bildung der grössten Zellen). Ein Vergleich der beiden könnte nur dann durchgeführt werden, wenn die Form und Grösse der Zellen für eine Art oder Rasse in jedem Nährmedium gleich wären. Dies ist aber nicht der Fall, denn Form und Grösse hängen, wie oben erwähnt, weitgehend vom Nährboden ab. Wenn man daher dem Einwand, den Ed. Frey — übrigens mit aller Vorsicht — erhebt, für Untersuchungen an höheren Pflanzen beistimmen könnte, so kann man es sicher nicht tun für niedere Organismen, da dadurch eine derartige Unsicherheit in die Experimentierarbeit und namentlich in die Beschreibung und den Vergleich verschiedener Materialien käme, dass niemand mehr den Mut hätte, solche schon an sich komplizierten Untersuchungen in Angriff zu nehmen.

Mir scheint, dass die eingeschlagene Methode praktisch die einfachste und zugleich die sicherste ist : Einen Standardnährboden zu wählen, in dem die weitaus grösste Zahl der einzelligen Algen gut gedeiht, und der überall leicht und in genau gleicher Zusammensetzung hergestellt werden kann. Auf diese Weise allein können meiner Ansicht

nach die Ergebnisse verschiedener Forscher in objektiver Weise miteinander verglichen und in der ganzen Erforschung der Algen und Flechtengonidien die für den Fortschritt so notwendige Einheitlichkeit erzielt werden. Ich wählte deshalb für die biometrische Bearbeitung sämtlicher *Coccomyxa*algen (sowie auch in den Untersuchungen über *Cystococcus* usw.) als Standard-Nährboden Knop ⅓ + 2 % Glucose. Auf diese Weise wird es jedem Algologen möglich sein, eine schon beschriebene Form nach den Grössenverhältnissen zu bestimmen und auch noch nicht beschriebene Klone den bekannten anzugliedern. In vielen Fällen sind überdies die Grössen- und Formverhältnisse in rein mineralischer Lösung (Knop ⅓) angegeben.