

JAHRESBERICHT

der Limnologischen Flußstation Freudenthal

Außenstelle der Hydrobiologischen Anstalt

der Max-Planck-Gesellschaft

1950

Quantitative Phytoplankton-Untersuchung mit Membranfiltern

von Wolfgang Schmitz.

Da das freie Wasser eines Flußsystems keinen scharf abgegrenzten Lebensraum darstellt, sondern vielfach durch einen kontinuierlichen Uebergang zwischen Abschnitten verschiedenen Milieus gekennzeichnet ist, und da ferner an jeder Stelle des Flußlaufes sich die Einflüsse der weiter oberhalb gelegenen Biotope durch Einschwemmung von Organismen und Stofftransport geltend machen, wird man befriedigende Erkenntnisse über die Zusammensetzung der Flußplankton-Gesellschaft und der diese bestimmenden ökologischen Bedingungen nur durch regionale Untersuchung eines ganzen Flußsystems unter Berücksichtigung der Nebenflüsse, Buchten, Seitenarme, der ripalen und benthischen Biozönosen gewinnen können. Derartig umfangreiche Untersuchungen setzen aber Methoden voraus, die ein rasches und bequemes Einsammeln und eine schnelle, möglichst quantitative Plankton-Analyse gewährleisten. Es ist naheliegend, hierbei ein Filtrationsverfahren zu verwenden, um Wasser- und Flaschenballast im Untersuchungsgepäck zu vermeiden und gleichzeitig eine bequeme Auszählung vornehmen zu können. Auch ist es wünschenswert, bei der Bestimmung festzustellen, ob das Plankton im lebenden oder bereits abgestorbenen Zustand in der Probe vorliegt.

Die sonstigen in der quantitativen Plankton-Untersuchung üblichen Methoden (UTERMOEHL 1936) erfordern entweder einen nicht unbeträchtlichen Zeitaufwand bei der Aufbereitung der entnommenen Wasserprobe zum Auszählen der Planktonindividuen (Sedimentieren, Zentrifugieren und Abpipettieren), verbunden mit einer Reihe von Fehlerquellen oder das kostspielige UTERMOEHLsche Plankton-Mikroskop. - Zwar kann bei sehr hoher Planktondichte die Auszählung der Probe einfach in einer Zählkammer vorgenommen werden. In den meisten Fällen - und bei der Flußplankton-Untersuchung fast ausnahmslos - kann nicht darauf verzichtet werden, die Probe zunächst zu konzentrieren.

UTERMOEHL reicherte das Plankton durch Filtration mit Membranfiltern an (UTERMOEHL 1927). Die Filter wurden nach beende-

ter Filtration getrocknet und mit Xylol-Kanadabalsam ins mikroskopische Präparat eingeschlossen, wobei durch das Einschlußmittel das Membranfilter aufgehellt wird. Der Trocknungsprozeß begrenzt die Anwendungsmöglichkeiten der Methode, da nur sehr widerstandsfähige, beschaltete Planktonformen das Lufttrocknen vertragen, ohne unkenntlich zu werden.

HEINRICH sucht bei der Filtrationsmethode diesen Uebelstand zu vermeiden, indem er ein mit Gelatine überzogenes Deckglas auf die zu filtrierende Wassersäule auflegt (HEINRICH 1934). Am Ende der Filtration sind die Organismen innerhalb der Gelatine zwischen Deckglas und Filter in einer Ebene angeordnet und somit der Zählung auch mit der Ölimmersion bequem zugänglich. Er verwendet glasklare Ultrafeinfilter "100-Minuten" (Membranfilter-Gesellschaft, Göttingen). Die Filter werden nicht aufgehellt, "weil zahlreiche zarte Planktoner in dem Aufhellungsmittel verschwinden." Die Ultrafeinfilter-Filtration ist mit einem erheblichen Zeitaufwand verbunden: Für 10 ccm bei 2 Atm. Ueberdruck 6 - 12 Stunden. Durch die langsame Filtration soll hingegen gerade vermieden werden, dass die Organismen beim Auftreffen auf das Filter geschädigt werden. Da die Gelatine kein dauerhaftes Einschlußmittel darstellt, muß die Auszählung bald nach der Filtration vorgenommen werden. Deformierung mancher Formen ist auch hier bei der vor der Filtration erfolgenden Fixierung nicht zu vermeiden.

Als Einschlußmittel mit sowohl in Bezug auf Formerhaltung als auch Dauerhaftigkeit des Präparates geeigneten Eigenschaften wird vielfach Glycerin empfohlen (LEMMERMANN 1910; SMITH 1933). Da Glycerin auch eine genügende Aufhellung der Membranfilter bewirkt, wurde es als Einschlußmittel bei der im folgenden beschriebenen Herstellung quantitativer Planktonpräparate verwendet.

Als Filterapparat dient dabei der zylindrische Metallfiltrationsapparat, \varnothing 4 cm, Inhalt 30 ccm, der Membranfiltergesellschaft Göttingen, in Verbindung mit Saugflasche oder Reagenzglas mit seitlichem Stutzen.

Auch bei Verwendung des "Coli-Apparates" tritt kein merklicher Fehler auf, wie er durch Sedimentieren auf den schrägen Wandflächen denkbar wäre. Den Unterdruck erzeugt man mit einer Wasserstrahlpumpe oder auf Untersuchungsfahrten, da die dörflichen Wasserleitungen meist zu geringen Wasserdruck besitzen, mit einer kleinen Elektropumpe. Durch Ansaugen mit dem Mund kann man die Filtration auch an Ort und Stelle durchführen.

Man verwendet als Filter zuvor in Wasser ausgekochte Membranfilter "grob" (Membranfilter-Gesellschaft Göttingen), die mit einer durchschnittlichen Porenweite von 3 bis 0,5 μ auch zur quantitativen Erfassung des Nannoplanktons hinreichend sind.

Es reicht in den meisten Fällen die Filtration eines Probenvolumens von 50 bis 100 ccm aus. Wird mehr Wasser filtriert, so häuft sich zu viel Detritus und Sand auf dem Filter an und verdeckt einen Teil der Planktonorganismen. Auch wird die Filtrationsgeschwindigkeit durch Ansammlung von Kolloidstoffen auf dem Filter bald ausserordentlich gering. 50 bis 100 ccm kann man in wenigen Minuten filtrieren. Bei dem unten beschriebenen Glycerin-Einschlussverfahren ist bei dieser Filtrationsgeschwindigkeit keine Beschädigung der Organismen beobachtet worden. Nach einiger Uebung erkennt man schon an der Färbung des Filters durch das Sediment, ob eine genügende Menge Wasser filtriert ist.

Mit dem Glycerineinschluss beginnt man, wenn die Flüssigkeitssäule bis auf 5 mm über den Filter abgesunken ist, wozu man sich zweckmässig eine Farbmarkierung innen im Filteraufsatz anbringt. Man tropft nun Glycerin in dem Maße, wie Flüssigkeit abgesaugt wird, zum restlichen Wasser, bis das Filter den Durchsichtigkeitsgrad fettigen Pergamentpapieres angenommen hat. Man saugt darauf bis auf einen kleinen Flüssigkeitsrest ab, gibt ca. 2 ccm Glycerin hinzu und saugt schliesslich vollständig ab. Der auf dem Filter verbleibende Glycerinfilm schützt die Planktonorganismen vor zur Unkenntlichkeit führenden Deformierung.

Das Filter wird sogleich auf eine Glasscheibe gebracht und mit einer Rasierklinge ein quadratisches Stück bestimmter Seitenlänge ausgeschnitten. Zweckmässig geschieht dies mit Hilfe eines rechtwinkligen kleinen Anlegestückes aus Blech, welches eine der Grösse des Quadrates entsprechende Kantenlänge besitzt. Zur einfachen Berechnung der Ergebnisse wählt man die Grösse des quadratischen Ausschnittes als einfachen Bruchteil, z.B. 1/10 der Filterfläche, aus. Beispielsweise ergeben sich für einen Durchmesser der wirksamen Filterfläche von 40 bzw. 35 mm folgende Kantenlängen des quadratischen Ausschnittes:

Ø wirksame Filterfläche	40 mm (Coli)	35 mm (MA)
wirksame Filterfläche	1257 mm ²	962 mm ²
1/10 wirksame Filterfläche	125,7 mm ²	96,2 mm ²
Kantenlänge des quadr. Ausschn.	$\sqrt{125,7} = 11,2$ mm	$\sqrt{96,2} = 9,8$ mm

Das Ausschneiden muss sorgfältig erfolgen, wenn kein merklicher Fehler bei der quantitativen Bestimmung entstehen soll. Eine um 0,5 mm vom Sollwert abweichende Kantenlänge des Quadratausschnittes verursacht einen Fehler von knapp 10 %, das Schwanken des Durchmessers der effektiven Filterfläche um 1 mm einen Fehler von 5 %.

Der Filterausschnitt wird nun nach einem von ZELLER beschriebenen Verfahren (ZELLER 1941/42) eingebettet. Er wird ganz aussen an einer Ecke mit einer Deckglaspinzette erfaßt und, die Planktonseite nach unten, auf die Mitte eines Deckglases 26 mal 32 mm von weniger als 0,17 mm Dicke (Immersionsbetrachtung!) gebracht. Auf die nunmehrige Oberseite des Filterausschnittes bringt man noch einen kleinen Tropfen Glycerin und bedeckt diesen darauf mit einem Deckglas 18 mal 18 mm, wobei man Luftblasen vermeidet.

Die Abmessung des Glycerintropfens erfordert einige Übung, da bei zu viel Glycerin die Planktonorganismen zwischen den Deckgläsern schwimmen. Andererseits soll aber das Glycerin möglichst die Berührungsfläche der beiden Deckgläser ausfüllen.

Die Deckgläser werden umgewendet und, das kleinere nach unten, auf einen Objektträger in Caedax eingebettet. Ein Vermischen von Caedax mit Glyzerin oder Verdunsten des Glyzerins wird bei dieser Methode vermieden. - Nach Eintrocknen des Caedax ist das Präparat zählfertig.

Zweckmässig sammelt man tagsüber die Planktonproben in bruchsfähigeren und leichten 100 ccm Polyäthylenkunststoff-Flaschen, um sie in Serie am Abend zu präparieren. Die Auszählung erfolgt später im Labor auf dem Kreuztisch des Mikroskopes, in dem einfach die auf der Filterausschnittfläche befindlichen Individuen gezählt werden. Multipliziert mit 10 (in unserem Beispiel) ergibt sich die Zahl der Planktonindividuen in der filtrierten Wassermenge. Die Durchsichtigkeit des Filters ist bei Verwendung einer Mikroskopierlampe genügend groß.

Bei unseren Untersuchungen von Flußplankton waren die Planktonalgen (Cyanophyceen, Chlorophyceen, Conjugaten, Diatomeen und verschiedene Flagellaten) in den Präparaten in wohl erhaltenem Zustand und, sofern zu ihrer Identifikation nicht an sich eine besondere Aufarbeitung nötig ist, auch bestimmbar. Besonders bleiben die Chloroplastenfarben gut erhalten. Es lässt sich somit eindeutig erkennen, ob die Plankter abgestorben oder in lebendem Zustand in der Probe vorliegen. Eine Fixierung der Proben vor dem Glyzerinzusatz wurde nicht vorgenommen. Unter Umständen wird man in Sonderfällen - z.B. um Geisseln sichtbar zu machen usw. - die Methode in dieser Hinsicht modifizieren. Hier liegen noch keine Erfahrungen vor.

Nicht bestimmbar sind allerdings viele Diatomeen. Da diese den Hauptanteil an der Zusammensetzung des Flußplanktons darstellen, war eine Ergänzung der Methode in dieser Hinsicht erforderlich, was durch Herstellung eines Glühpräparates auch möglich ist. Man schneidet hierzu aus dem Filter ein zweites Quadrat von derselben Grösse wie das erste aus und bringt es auf ein Deckglas. Dieses wird auf einer Heizplatte allmählich erhitzt, wobei es durch eine umgekehrte kleine Porzellanschale bedeckt wird, um starke Luftzufuhr und damit spontane Verbrennung des Filters zu vermeiden. Dabei verkohlt das Filter,

worauf man das Deckglas auf ein Silberblech bringt und über einer Spiritus- oder Gasflamme ausglüht (Näheres über zweckmäßige Herstellung von Glühpräparaten: HUSTEDT 1929, 1930a und 1930b). Das Deckglas kann ohne Einbettungsmittel trocken auf dem Objektträger mit einem Lackring befestigt werden oder man bettet in Hyrax ein. Die Diatomeen sind gut bestimmbar und wie im Glycerinpräparat direkt auszählbar. Durch das Glühen bleiben auch die zarten Formen im Gegensatz zum Schwefelsäure-Aufbereitungsverfahren quantitativ erhalten.

Literatur:

- HEINRICH, K. 1934 - Atmung und Assimilation im freien Wasser. Int. Rev. d.ges.Hydrobiol.30, 387-410, 1934
- HUSTEDT, F., 1929 - Vom Sammeln und Präparieren der Kieselalgen sowie Angaben über Untersuchungs- und Kulturmethode. Abderhalden Handb.Biol.Arbeitsmeth. Abt. XI.T.4, S.1, 1929
- " 1930a - Die Süßwasserflora Mitteleuropas Heft 10 Bacillariophyta, 2.Aufl. 1930
- " 1930b - Rabenhorst's Kryptogamen-Flora, Bd.7, Die Kieselalgen, AVG, Leipzig 1930.
- LEMMERMANN 1910 - Kryptogamen-Flora der Mark Brandenburg 1910.
- SMITH, G.M., 1933 - The Fresh Water Algae of The United States, 1933.
- UTERMOEHL, H., 1927 - Archiv für Hydrobiologie 18, 476 (1927)
- " 1936 - Quantitative Methoden zur Untersuchung des Nannoplanktons. Abderhalden, Handb.Biol. Arbeitsmeth.IX, T.2, 2.Hälfte, S.1879-1898,
- ZELLER 1941/42 - Der Einschluss in Glycerin. Z.f. wiss. Mikroskopie, 58, 314-320, 1941/42.

Inhaltsverzeichnis
der Jahresberichte 1949 und 1950.

Jahresbericht 1949

(Noch einige Exemplare vorhanden)

	Seite
1.) Vorwort	1
2.) Professor Beling zum Gedächtnis	2
3.) W. Schmitz und K. Müller - Das Fischsterben in der Werra	3
4.) J. Illies - Die Wasserkäfergesellschaften der Fulda (vorl. Mittlg.)	11
5.) E.J. Pittkau - Mitteilung über die in der Fulda und ihren Zuflüssen aufgefundenen Weichtiere	17
6.) W. Schmitz - Der Wasserchemismus der Fulda unter besonde- rer Berücksichtigung des biologischen Einflusses	20
7.) K. Müller - Fischereibiologische Untersuchungen an den Abwässergebieten der Fulda	26
8.) W. Schmitz - Der Wasserchemismus der Fulda unter besonde- rer Berücksichtigung der geologischen Einflüsse	28
9.) K. Müller - Die volkswirtschaftliche Bedeutung der Bin- nenfischerei	37

Jahresbericht 1950

1.) M. Scheele - Die Limnologische Flußstation Freudenthal	1
2.) A. Beling - Bakteriologische Untersuchungen während der Fulda-Expedition 1948 (vorl. Mittlg.)	4
3.) J. Illies - Die Ephemeriden, Plecopteren und Trichopte- ren der Fulda-Expedition 1948	14
4.) K. Müller - Fische und Fischregionen der Fulda	18
5.) M. Scheele - Beitrag zur Frage der Abgrenzung von Kiesel- algen-Gesellschaften in fließenden Gewässern	23
6.) J. Illies - Zur bizönotischen Gliederung der Fulda	29
7.) K. Müller - Untersuchungen über die Bestandsdichte der Fische in der Forellenregion der Fulda	34
8.) K. Höll - Chemische Untersuchungen im Weserflussegebiet. Periodische Untersuchungen der Weser bei Hameln	39
9.) K. Müller - Beobachtungen über Schuppengenerationen bei der Bachforelle (<i>Trutta fario</i> L.) vorl. Mittlg.	43
10.) W. Schmitz - Flammenphotometrische Analysenverfahren in der Wasseranalyse	45
11.) W. Schmitz - Quantitative Phytoplankton-Untersuchung mit Membranfiltern	60
12.) M. Scheele - Ueber die Anwendung des Lochkartenverfahrens bei biologischen Untersuchungen	66

A n s c h r i f t e n
der Limnologischen Flußstation Freudenthal
und der Verfasser.

Dr. M. Scheele
K. Müller
(und Verwaltung)

Weserstation der
Limnologischen Fluß-
station Freudenthal
Hann.-Münden
Galgenberg 19

Dr. J. Illies
E. J. Fittkau

Fuldastation der
Limnologischen Fluß-
station Freudenthal
Schlitz (Oberhessen)

Frau Dr. A. Beling
W. Schmitz

Werrastation der
Limnologischen Fluß-
station Freudenthal
Freudenthal
bei Witzenhausen

Dr. K. Höll

Mitarbeiter der
Limnologischen Fluß-
station Freudenthal
Hameln (Weser)
Kaiserstr. 58

Wir bitten die in Frage kommenden Stellen höflichst um
Separaten-Austausch.