

Anziehen einer Amöbenkultur

Sollen die in der Ausgabe X der Zeitschrift X im Artikel „Amöben“ vorgestellten Schulversuche durchgeführt werden, so ist es notwendig, bereits einige Wochen im Voraus eine stabile Kultur von *Amoeba proteus* aufzubauen, um die Versorgung mit Versuchstieren zu gewährleisten. Dazu wird im Folgenden eine detaillierte Anleitung gegeben.

Damit die Zucht der Amöben gelingt sei zunächst daran erinnert, stets mit möglichst sterilen Materialien und Gefäßen gearbeitet wird, um unerwünschte, schädliche Organismen aus den Kulturen auszuschließen. Da nicht jeder über professionelle Sterilisatoren verfügt, seien hier einige einfache Möglichkeiten genannt, mit deren Hilfe die verwendeten Materialien relativ steril gemacht werden können. Die erste Möglichkeit, Glasgeräte und Ähnliches zu sterilisieren, ist, sie für 30-60 Minuten in kochendes Wasser zu geben. Eine weitere, oftmals effektivere Methode besteht allerdings in der Heißluftsterilisation. Dazu werden die Materialien bei 160-170°C für eine halbe Stunde in einen Backofen gestellt (vgl. Mayer, 1971, 22). Nach Ablauf der 30 Minuten muss den Geräten ausreichend Zeit zum Auskühlen gegeben werden, da besonders Glasgegenstände bei zu rascher Erkaltung bersten können. „Impfnadeln und -ösen werden zur Sterilisation ausgeglüht, für Objektträger u.ä. genügt in vielen Fällen gründliches Abflammen“ (ebda.).

Jede Kultur beginnt mit einer relativ kleinen Anzahl an Amöben, einer sogenannten Starterkultur. Ein solcher Kulturansatz kann zum einen im Internet (z.B. unter www.lebendkulturen.de) für ca. 8€ zzgl. Versand bestellt werden. Zum anderen kann man aber auch den interessanteren, wenn auch aufwendigeren Weg wählen und die Amöben selber in der Umwelt sammeln und anziehen. Dabei muss bedacht werden, dass sich Amöben nicht unbedingt ihrem Image entsprechend in verdrecktem und faulem, sondern vielmehr in sauberem Wasser finden lassen (vgl. LERAY & FORD, 1959, 74). So gedeiht die in dieser Reihe verwendete Art *Amoeba proteus* am besten in Tümpeln und Teichen mit relativ klarem Wasser, in denen nur mittelmäßig viel organisches Material verwittert (vgl. HOPKINS & PACE, 1959, 76). Hier halten sie sich meist an verschiedenen Pflanzen wie Haarnixen oder Wasserpest oder aber im Detritus am Boden auf (vgl. HALSEY, 1959, 80). Um die Amöben einzusammeln, entnimmt man aus dem ausgesuchten Gewässer daher am besten mit einer weiten Pipette oder einem Löffel eine kleine Menge der oberen Bodenschicht und des darüber stehenden Wassers inklusive organischem Material (vgl. HOPKINS & PACE, 1959, 76.). Außerdem sollte noch eine etwas größere Menge Wasser (ca. 2 Liter) aus dem Wasserkörper mitgenommen werden, da dieses für den später durchzuführenden Kulturansatz hervorragend geeignet ist. Zurück im Labor füllt man die Bodenprobe und die Probe des über dem Boden stehenden Wassers in ein hohes, schlankes Gefäß wie einen großen Messzylinder aus Glas. Nach einiger Zeit setzt sich auf dem Boden des Zylinders das organische Material der Probe ab. Die Amöben sinken aufgrund ihrer geringeren Dichte in der

Wassersäule langsamer als das meiste übrige Material der Probe und sind deshalb auf der eben genannten Substratschicht zu finden (vgl. HOPKINS & PACE, 1959, 77). Die Amöben können nun mit einer Pipette abgesaugt und in eine mit Wasser aus dem Ursprungsgewässer gefüllte Petrischale gegeben werden. Dabei ist darauf zu achten, dass die Pipettenspitze weder zu eng noch zu weit ist: Bei einer zu engen Spitze können die Amöben durch beim Einsaugen auftretende Scherkräfte zerrissen werden, bei einer zu weiten Spitze zieht man zu viel anderes Material mit ein. Optimal sind Pipettenspitzen von ca. 1-1,5 mm Weite. Hat man die Amöben umgesetzt, so kann man sie unter einem Binokular oder Mikroskop mit einer Pipette oder Platinöse gezielt absammeln und durch diese Sortierung einen wichtigen Schritt auf dem Weg zu der angestrebten „unreinen Speziesreinkultur“ machen. Nun können die Amöben in verschiedene Kulturmedien gesetzt werden. Die Herstellung zweier zuchttechnisch gesehen sehr erfolgreicher Medien wird in dem Artikel „Amöben“ in der Ausgabe X der Zeitschrift X beschrieben. Hier finden sich auch weitere Tipps zum weiteren Betrieb und zur Pflege der Amöbenkultur.

Ein kontrollierbareres Kulturmedium

Ein Vorteil des hier beschriebenen Kulturmediums ist im Gegensatz zu dem im Artikel „Amoeba proteus im naturwissenschaftlichen Unterricht“ vorgestellten ganz klar die Möglichkeit der Kontrolle der stofflichen Zusammensetzung der Kulturflüssigkeit. Auf diese muss neben der Bekämpfung von Verunreinigungen mit schädlichen Organismen eines der Hauptaugenmerke beim Betrieb einer Amöbenkultur gelegt werden (vgl. MAYER, 1971, 24). Man sollte daher, falls ein Kulturansatz mit Ursprungswasser scheitert, folgende Kulturflüssigkeit probieren. Für diese wiegt man mit einer Mikrowaage 0,1 g NaCl, 0,004 g KCl und 0,006 g CaCl₂ ab und gibt alles zusammen mit einem Liter destilliertem Wasser in ein steriles Glasgefäß (vgl. CHALKLEY, 1930, 442). Nachdem alles gut verrührt wurde, füllt man mit dem Gemisch eine Petrischale von etwa 10 cm Durchmesser auf 1-2 cm auf und gibt zunächst, wie schon bei der ersten Methode, Beuteorganismen und 3-4 Reiskörner dazu. Nach 1-2 Tagen können dann Amöben eingesetzt werden. Mit diesem Medium gelingt der Kulturstart laut CHALKLEY (1930) in ungefähr 38 von 40 Fällen, selbst wenn keine zusätzlichen Beuteorganismen eingesetzt werden (442).

Anzucht von Beuteorganismen für Amoeba proteus

Zur Anzucht von *Chilomonas paramecium* empfiehlt es sich, einen Heuaufguss anzufertigen. Hierzu kocht man zuerst 8 Stücke Heu von jeweils 3 cm Länge in 100ml Wasser für 10 Minuten und lässt das Ganze anschließend 24 Stunden ruhen (vgl. HALSEY, 1959, 80). Dann setzt man möglichst viele

Individuen von *Chilomonas paramecium* in den Aufguss ein und wartet 2-3 Tage ab, damit sich die Algen ausreichend vermehren können (vgl. HALSEY, 1959, 81).

Der Kultur von *Paramecium caudatum* hingegen dient ein Aufguss auf Basis von Steckrüben. Zunächst schneidet man „einen Teil einer Steckrübe in kleine Würfel, die man vollständig trocknet“ (STORCH & WELSCH, 2009, 11). Von diesen Würfeln gibt man dann 3-4 in einen mit ungefähr 1l Leitungswasser gefüllten Standzylinder, den man unverschlossen stehen lässt (vgl. ebda.). Relativ bald wird sich durch eine mehr oder minder starke Trübung des Wassers eine wachsende Bakterienpopulation bemerkbar machen. Dann „pipettiert man möglichst viele Paramecien hinzu, die man aus natürlichen Proben gewonnen hat“ (ebda.). Man wartet auch hier 2-3 Tage ab, damit sich *P. caudatum* ausreichend vermehren kann.

Hat sich *C. paramecium* bzw. *P. caudatum* ausreichend vermehrt, so werden sie möglichst zahlreich in das Medium der zukünftigen Amöbenkultur übergeimpft. Um die Ernährung und Vermehrung der Beuteorganismen auch im Medium der Amöbenkultur weiterhin zu gewährleisten, werden 3-4 Weizen- oder Reiskörner zugegeben. Von mehr wird abgeraten, da zu viel organisches Material im Kulturmedium zu überhöhter Bakterienbildung und somit zum Niedergang der erwünschten Organismen führen kann (vgl. HALSEY, 1959, 80). Man sollte nun noch 1-2 Tage abwarten, bevor man die Amöben einsetzt, damit sich die Beuteorganismen im Kulturmedium ausbreiten können.