

Petr Marvan:

K metodice kvantitativního stanovení nannoplanktonu pomocí membránových filtrů.

Mezi způsoby kvantitativního stanovení nannoplanktonu našly dosud filtrační metody velmi malé uplatnění. K zahuštění nejmenších planktonních forem se používá běžně centrifugace nebo sedimentace přes to, že ani jeden z těchto způsobů není možno označit za zcela vyhovující; jejich přednosti i nevýhody jsou dobře známy a není nutno se jimi blíže zabývat (srov. na př. U t e r m o e h l 1936).

Otázka použitelnosti jiného způsobu — filtrace — je v prvé řadě otázkou výběru vhodné filtrační hmoty, která by při dostačující rychlosti filtrace zaručovala kvantitativní stránku procesu a splňovala při tom i požadavek další zpracovatelnosti zahuštěného materiálu. Objevem membránových filtrů (S z i g m o n d y - B a c h m a n n 1918) se dostal hydrobiologii do rukou materiál, který vyhovuje oběma prvním požadavkům lépe než kterékoli jiné dosud užívané filtry.

Membránové filtry (dále v textu MF) jsou hladké, většinou bílé a neprůhledné blány papírovité konsistence, složené z polymerů esterů celulosy. Vyznačují se vysokou (75—80%) pórovitostí, která umožňuje rychlejší provedení filtrace než jiné filtrační hmoty. Velikost pórů kolísá u určitého typu MF relativně málo a je ji možno i při „domácí“ výrobě snadno regulovat různým způsobem přípravy výchozí směsi. V praxi našly uplatnění především membrány s velikostí pórů 0,5—5 μ , které jsou neprůhledné; jsou však známy i průhledné, t. zv. ultrajemné filtry s průměrem pórů menším než 0,05 μ . Jejich použitelnost je značně omezena dlouhou filtrační dobou i při vysokých tlacích (10 ml vody i při tlaku 2 Atm. 6—12 hod., srov. S c h m i t z 1950). Důležitou vlastností MF je to, že nemají vláknitou strukturu a že suspendované částice, pokud pory neprocházejí, zůstávají na povrchu membrány a jsou lehce od ní oddělitelné.

První zprávy o možnostech uplatnění membránových filtrů při kvantitativních rozborech nannoplanktonu pocházejí již z 30. let tohoto století (Z s i g m o n d y 1924, K o l k w i t z 1924, B a c h m a n n 1926, U t e r m o e h l 1927), současně s objevem jejich významu v hydrobakteriologii. Zatím co zde získaly metody již velmi pevné, a možno říci i vedoucí místo mezi kvantitativními metodami kultivačními i mikroskopickými, nedošel výzkum jejich použitelnosti v algologii příliš daleko. Příčina toho tkví snad především v obtížích vyvolaných neprůhledností membrán, která ztěžuje přímé mikroskopické pozorování a tím i další kvantitativní zpracování zahuštěného vzorku.

Zpřístupnění materiálu zahuštěného filtrační přes MF lze umožnit několikaletým způsobem:

1. *prosvětlením filtru po úplném odssátí původní vody cedrovým olejem, kanadským balzámem (U t e r m o e h l 1927), benzylalkoholem (J a n n a s c h 1953) nebo glycerinem (S c h m i t z 1950, 1952, 1953);*

2. *rozpuštěním filtru v acetonu (U t e r m o e h l 1936);*

3. *použitím průhledných filtrů (H e i n r i c h 1934, cit. ex S c h m i t z 1950);*

4. *přerušením filtrace dříve, než filtr oschne, doplněním zbytku vody na určitý přesně známý objem a přenosem určitého množství rozmíchané suspence k propočtení v komůrce (K o l k w i t z 1924, U t e r m o e h l 1936).*

Ani prvního, ani druhého způsobu nelze použít pro kvantitativní stanovení jemných forem, které mohou být použitými chemikáliemi až k nepoznání deformovány; některé metody se hodí jako doplňkové pro kvalitativní stanovení rozsivek (na př. J a n n a s c h 1953), resp. i jiných organismů opatřených schránkou nebo alespoň pevnější membránou (nevyžaduje-li si poznatelnost organismu zachování buněčného obsahu). Podrobnější pozornosti zasluhuje postup S c h m i t z ů v (1950), který zmíněný nedostatek částečně odstraňuje.

Třetí i čtvrtý způsob umožňuje práci s živým materiálem, má však jiné nevýhody: H e i n r i c h o v a metoda (l. c.) je zdoluhavá (srov. p. 76), finančně nákladná a může vést i ke skreslení výsledku následkem změn ve složení fytoplanktonu během odssávání. Při posledním postupu ulpívají podle U t e r m o e h l a (1936) organismy se slizovým obalem na filtrační membráně tak pevně, že je nelze bez poškození oddělit a převést tak kvantitativně do suspence.

Účelem pokusů prováděných v letech 1954 a 1955 ve Výzkumném ústavu vodohospodářském bylo právě tento postup podrobit bližšímu rozboru, vyšetřit, jak dalece je oprávněna námitka uváděná U t e r m o e h l e m, a ověřit, lze-li chyby vznikající při této metodě zanedbat. Dosažené zkušenosti a výsledky srovnávacích pokusů jsou shrnuty v předložené práci.

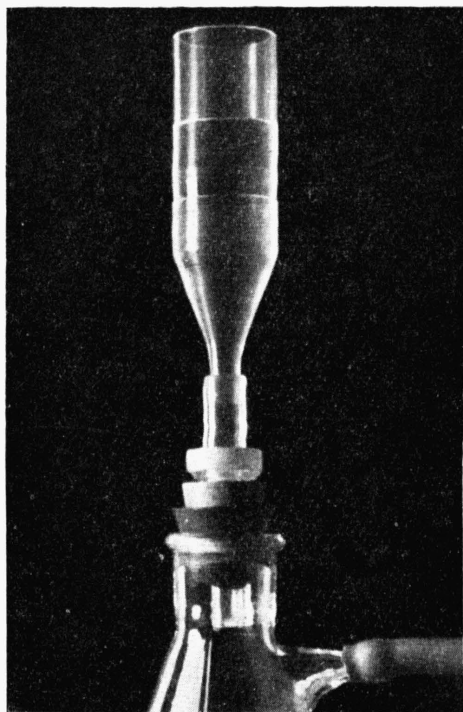
Filtry a filtrační přístroj

1. Membránové filtry. Při pokusech s filtrací vzorků nannoplanktonu přes MF bylo pracováno s membránovými filtry vlastní výroby připravenými — s menší obměnou — podle B a c h m a n n o v a (1926) ná-

vodu: K 66 ml 6% kolidia (roztok v alkoholu a etheru smíchaných v poměru 1 : 1; preparát Spolku pro chem. a hutní výrobu n. p. Praha, č. 4848) a 33 ml bezvodého acetonu se přidá 5 ml absolutního alkoholu a směs se po rozmíchání opatrně rozleje na vodorovnou čistou skleněnou desku. Po odpaření rozpustidla a koagulátoru vznikne bílá membrána, kterou lze po zvlhčení vodou lehce sejmut. Blánu je možno v suchém stavu uchovávat až 3 měsíce. Při přípravě výchozí směsi je nutno dbát na to, aby použité chemikálie obsahovaly co možná nejméně vody. Je-li vody příliš mnoho, membrána se nedá od skla lehce oddělit, mívá trhliny a je nepravidelně koagulována.

Velikost pórů a tím i rychlost filtrace určuje množství alkoholu (podle vlastních zkušeností) a acetonu (podle B a c h m a n n a l. c.). Čím více se přidá alkoholu, tím menší póry vzniklá membrána má a tím pozvolněji filtrace probíhá. Použitý poměr chemikálií vyhovoval dobře požadavku kvantitativního zachycení i nejmenších forem nannoplanktonu a neprodužoval zbytečné filtrační dobu (srov. dále).

Membrány takto vyrobené jsou nepravidelně areolovány (snad pro přítomnost vody v některém z použitých rozpustidel) a nepropouštějí vodu stejnoměrně; svědčí o tom rozložení vrstvy na filtru, která se ukládá pouze pod plochou políček. Takové membrány se nehodí pro



Filtrační přístroj. (Konstrukce St. B e n e š, Vývojové dílny ČSAV, Brno.)

případy, kdy nehomogenita rozložení vadí stanovení (metody počítání organismů na filtru), při sledovaném postupu nemohou však vyvolat nežádoucí komplikace.

2. Filtrační aparatura. Seitzův filtrační aparát, používaný obvykle k upevnění MF při bakteriologických rozbořech, nevyhovuje požadavkům zkoušeného postupu. Proveditelnost základního principu metody, zahuštění vzorku z původního objemu na konečný, si vyžaduje použití průhledného materiálu (sklo, plexiglas) a některých dalších úprav. Popis přístroje užívaného na našem pracovišti (viz obr. 1) není nutno podávat. Jednotlivé body, v nichž se liší od Seitzova aparátu, a podobných přístrojů pro filtraci zkooplanktonu (Bachmann 1926, Kolkwitz 1924, Utermoehl 1936, Schmitz 1952) vysvitnou z toho, co uvádím v další části.

Předpoklady kvantitativnosti metody.

Má-li být postup kvantitativního stanovení nannoplanktonu, jak byl v principu naznačen výše, prakticky proveditelný, je nutno, aby byly splněny tyto požadavky:

1. Použitý typ MF musí mít vhodnou velikost pórů, aby byla dána záruka kvantitativního zachycení i nejmenších forem nannoplanktonu a aby nebyla zbytečně prodlužována doba filtrace (resp. zvyšován tlak nutný k usku-tečnění průchodu kapaliny). Použité filtry oběma podmínkám dobře vyhovovaly: vyšetřování filtrátu na přítomnost organismů přineslo vesměs negativní výsledek a dalo tak nepřímý důkaz o vhodné velikosti pórů, která není přímým mikroskopickým pozorováním zjištělná. Přes MF připravené podle uvedeného postupu neprocházejí ani nejmenší zástupci zelených řas, jejichž velikost převyšuje sotva $1\ \mu$; při pokusu provedeném sterilně v Seitzově filtračním aparátu (M. Bojanovská) byla dokonce prokázána sterilita filtrované říční, bakteriálně silně oživené vody. Přitom filtrace probíhá relativně velmi rychle i při slabém podtlaku: přefiltrování 50 cm čisté, málo oživené vody netrvá většinou (při zkoušené filtrační ploše $0,68\ \text{cm}^2$ a podtlaku 40 mm Hg) déle než 5 min. U vod s vyšším obsahem sestonu se filtrační doba pochopitelně prodlužuje, v těchto případech dostačuje však vzít k rozboru menší množství vzorku (5–50 cm).

2. Filtrační přístroj musí být upraven tak, aby bylo možno zabránit průchodu vody filtrem při plnění kalibrovaného násadce původním objemem vzorku (není-li pipetováno) a při dosažení konečného objemu v . Úplné zastavení filtrace je možno přivodit vzbuzením slabého přetlaku pod filtrem, který je pro vzduch neprostupný. K tomuto účelu je nutno přístroj opatřit vhodným zařízením (na př. balónkem, pumpičkou na tlak). Vlastní pokusy zaměřené k zjištění, dostačuje-li toto opatření k úplnému přerušení filtrace, ukázaly, že ani po 10 min. hladina sloupce destilované vody nad čistým, nepoužitým filtrem viditelně nepoklesne.

Zde je na místě upozornit na nežádoucí jev, který může při nevhodné konstrukci filtrační aparatury nastat. Při vzbuzení přetlaku přejde vždy část vody udržující se pod filtrem zpět do prostoru nad filtrem a zvětší tak objem zahuštěného vzorku. Není-li toto množství vody příliš velké, je odstranění zá-vady jednoduché: odsávání zastavujeme teprve tehdy, když hladina vody poklesne pod rýžku vymezující objem v a výšku vodního sloupce nastavujeme teprve dodatečně přidáním potřebného množství čisté vody.

3. Konečný objem v musí být dostatečně přesně nastavitelný. Přesnost nastavení objemu v má pro přesnost celé metody daleko větší význam než nastavení původního objemu vzorku. Nemá-li skreslení výsledku překročit určitou, předem stanovenou mez, musí i výška vodního sloupce h při konečném objemu v ležet nad určitou minimální hodnotou. Uvažujeme-li přesnost na-

stavení menisku $\pm 0,2$ mm, nemůže při $h = 10,0$ mm překročit relativní chyba stanovení 2 %, a to ani v tom případě, je-li membrána přetlakem lehce vyduťtá (při průměru filtrační plochy 0,8–0,9 cm je objem, o nějž je prohnutím použitého typu filtru v zmenšeno, vždy menší než objem kapaliny držené adhezí při stěnách trubice, takže i při respektování skutečného tvaru zaujatého kapalinou nevede propočet k větší chybě); výsledky ověřovacích pokusů svědčí dokonce pro ještě větší přesnost nastavení.

Výška h , určená požadavkem přesnosti, určuje přibližně i maximální zahuštění, jehož je možno filtrací dosáhnout. Není-li voda zjevně zakalena nebo vegetačně zbarvena, projde přes 1 cm^2 membrány alespoň 50 ml vody bez podstatného snížení rychlosti filtrace; u těchto vod lze počítat s cca 50násobným zahuštěním planktonu, které již, i když je zhruba 6krát menší než při centrifugační metodě, zcela dostačuje.

4. Vrstva na filtru nesmí příliš pevně k membráně přilnout. V tomto bodě má být podle U t e r m o e h l a (1936), jak jsem se již zmínil, slabina sledovaného postupu. Výsledky našich pozorování neukazují na to, že by ztráty vzniklé ulpěním organismů na MF byly příliš veliké. Při mikroskopické prohlídce filtru, vyňatého z aparátu po rozmíchání sestonu způsobem uvedeným v bodě 5 a odstranění co možná veškeré vody kapátkem, se setkáme pochopitelně vždy s několika buňkami, přichycenými k membráně nebo nad ní se vznášejícími. Pokud jejich počet není vysoký, nemůže být metodě na závadu, uvážíme-li že s organismy zůstává na filtru vždy i určité neodstranitelné množství vody. Je nutno připomenout, že byly konány pokusy i s vláknitými sinicemi „vodního“ květu [*Aphanizomenon flos-aquae* (L.) R a l f s., *Anabaena spiroides* K l e b.], u nichž U t e r m o e h l především zdůrazňuje přichycování k membráně, a že i zde bylo dosaženo velmi dobrých výsledků. Není vyloučeno, že U t e r m o e h l vyvodil své zkušenosti na základě práce s fixovaným materiálem, který se v tomto ohledu může chovat odlišně.

5. Organismy nesmí být při filtraci ani při zásahu, jehož je nutno použít k rozmíchání vrstvy na filtru, poškozovány. Při pokusech bylo pracováno vesměs s lehkým podtlakem (< 40 mm Hg); rychlost průchodu vody filtrem nepřevyšovala nikdy 20 cm za min.; rozmíchávání sedimentu bylo prováděno po oddělení nástavce filtračního aparátu dlouze vytaženou pipetkou o světlosti cca 1 mm. Před vlastním rozmícháním se osvědčilo několikrát opakované prossátí vody, udržující se pod filtrem, přes membránu a zpět střídavou změnou tlaku v láhvi. Po tomto zákroku nečinilo obtíží rozmíchání vrstvy rozvířením a lehkým přejetím plochy filtru koncem kapátka.

U naprosté většiny dosud zkoušených organismů nevyvolal uvedený postup nejmenších změn. Platí to především o všech sledovaných zástupcích sinic, zelených řas a rozsivek, jejichž mikroskopický obraz po filtraci se nelišil od obrazu po 10minutové centrifugaci při 2000 otáčkách za min. Podle dosavadních zkušeností jsou výsledky příznivé i u bičíkoveců, a to i u neoblaněných druhů. Určitý vliv operací však u nich přesto bylo možno pozorovat: nejnápadnější bylo v několika případech omezení nebo i potlačení pohybu, vyvolané patrně deformací bičíků. Buňky při tom zůstaly živé a často se po krátké době vrátily k pohybu. Pokud se týče deformace buněčného obsahu a tvaru buňky, nebyly dosud nikdy, ani u neoblaněných bičíkoveců, pozorovány takové změny, aby vzhledem k centrifugační metodě ztížily determinaci. Ostatně kromě takto poškozených buněk bylo možno se setkat v preparátech vždy i s buňkami nedeformovanými a normálně pohyblivými.

Zůstává dosud otevřená otázka, nenastává-li při odssávání nebo rozmíchávání vrstvy tak silná destrukce těl jemnějších organismů, že je v přenesené kapce již nenajdeme. Tuto možnost nelze a priori vyloučit, neměl jsem však dosud příležitost ověřit si oprávněnost těchto obav na dostatečně bohatém materiálu, kde by bylo možno přistoupit k srovnání výsledků s jinou metodou. Dosavadní zkušenosti nenasvědčují žádné z jmenovaných možností, ale ani ji s konečnou platností nevylučují.

Srovnávací pokusy.

Vlastní pokusy zaměřené k srovnání zkoušené metody s jinou metodou kvantitativního stanovení nannoplanktonu byly prováděny vesměs s materiálem, u něhož bylo možno předpokládat nezávislost v rozložení buněk a tím i možnost přibližného vyčíslení chyby stanovení (viz dále). Jako srovnávací bylo použito metody přímého počtu buněk v Bürkerově komůrce bez předchozího zahuštění vzorku. Pokusy byly prováděny většinou tak, že v původním vzorku byla stanovena koncentrace buněk (coenobií), vzorek byl přesně n -krát zředěn a opět n' -krát zahuštěn filtrací přes MF. Hodnoty dosažené při 10 pokusech jsou shrnuty v tab. 1.

Jako materiál k pokusům bylo použito:

1. suspense vypálených misek rozsivek; propočítávány misky bez ohledu na druhovou příslušnost;
- 2.—6. buňky *Scenedesmus unicellularis* Chod. při různém ředění původního materiálu;
7. buňky *Ankistrodesmus* sp. div. ve vzorku rybníčního planktonu;
- 8.—10. čtyřbuněčné kolonie *Scenedesmus* sp. div. v témže vzorku planktonu, rozbory v různé dny.

Při žádném pokusu nebylo zjištěno podstatnějších rozdílů mezi oběma hodnotami A_1 a A_2 ; relativní chyba stanovení vztažená k původní hodnotě A_1 nepřevyšuje nikdy 10 %. Významné je, že byly zjištěny i případy, kdy $A_2 > A_1$, takže průměr relativní chyby obnáší jen 1,51 %.

Ztráty vzniklé ulpěním organismů na filtru není možno z uvedených hodnot ani přibližně vyčíslit. Hodnoty A_1 i A_2 byly určeny na základě propočtu příliš nízkého počtu buněk, takže je nutno počítat s velkou střední chybou jejich stanovení vyplývající ryze z nestejnomyšerného rozložení buněk na ploše Bürkerovy komůrky. Skreslení výsledku jím vyvolané je nežádoucím průvodním zjevem všech obdobných kvantitativních metod, ať již jde o počítání buněk na dně Kolkwitzovy komůrky, v mikroskopickém preparátu, na filtrační membráně a pod. V případech, kdy můžeme předpokládat, že rozložení buněk planktonů (resp. jejich coenobií nebo kolonií) probíhá bez vzájemného ovlivňování jedné buňky (coenobia, kolonie) druhou, je možno k přibližnému výpočtu střední chyby stanovení — a tím i mezi, v nichž s největší pravděpodobností bude hledaná výsledná hodnota ležet — použít vztahu (srov. na př. Ponder 1934)

$$\text{s. ch.} = \pm \frac{\sqrt{y}}{y} 100 \%,$$

kde y je počet buněk na propočítávané ploše. Střední chyba stanovení hodnoty A_1 a A_2 vypočtená podle tohoto vzorce je uvedena ve sloupci 11 a 12 tab. 1. Nebereme-li v úvahu ty případy, kdy $A_2 > A_1$, a kdy lze tedy vyloučit podstatnější vliv ulpívání organismů na filtrační membránu, je skreslení výsledku, překročila relativní chyba stanovení střední chybu stanovení hodnoty A_1 pouze třikrát, při 2., 7. a 8. pokusu. Ani v těchto případech není překročení velké (max. 1,56násobné) a nesvědčí jistě pro to, že by ulpívání organismů ovlivňovalo nežádoucí přesnost metody.

Druhy až dosud použité k srovnávacím pokusům náležejí vesměs k oblaňným formám bez slizovatejší membrány, u nichž nebylo nutno se obávat podstatnějšího skreslení výsledku. Pro stanovení obecné použitelnosti metody

Tabulka č. 1.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	y_1	b_1	A_1	n	n'	y_2	b_2	A_2	$\frac{A_2 - A_1}{A_1} 100$	$\frac{\sqrt{y_1}}{y_1} 100$	$\frac{\sqrt{y_2}}{y_2} 100$
1	81	0,5645	143495	—	17	219	0,0931	138371	—3,592	11,111	6,757
2	811	0,1420	5711267	10	10	752	0,1380	5449275	—4,587	3,511	3,647
3	122	0,4800	254167	—	20,42	1136	0,2040	272705	7,294	9,053	2,967
4	122	0,4800	254167	—	20,42	1054	0,1940	266062	4,680	9,053	3,080
5	840	0,2000	4200000	20	20,42	890	0,1960	4447420	5,891	3,450	3,352
6	840	0,2000	4200000	20	20,42	830	0,1920	4234003	0,810	3,450	3,471
7	380	0,4032	942461	20	20	340	0,3917	868056	—7,895	5,130	5,423
8	257	0,5702	450687	20	20	150	0,3629	413360	—8,282	6,238	8,165
9	210	0,4781	439255	20	20	241	0,5645	426941	—2,803	6,900	6,442
10	167	0,4205	397165	20	20	203	0,5472	370979	—6,593	7,738	7,019

y_1, y_2 počet buněk zjištěný přímým počítáním (y_1), resp. po zředení a opětném zahuštění vzorku (y_2) v propočítávaném objemu b_1 , resp. b_2 .

b_1, b_2 příslušné propočítávané objemy v mm^3 .

A_1, A_2 odpovídající počet buněk v 1 ml vzorku.

n zředení původního vzorku.

n' zahuštění zředěného vzorku filtrační metodou.



je nejvýše nutné srovnat výsledky zkoušené metody s výsledky jiné metody u forem lehce podléhajících deformaci (bezblanní bičíkovci) a u druhů vytvářejících lepkavý sliz. S prvými jsem neměl dosud příležitost srovnávací pokus provést; u druhých je srovnání značně ztíženo tvorbou vícebuněčných kolonií o neurčitém počtu buněk, takže není splněn požadavek nezávislosti v rozložení pro aplikaci *P o i s s o n o v a* rozdělení. Jak již bylo řečeno, dosavadní zkušenosti nenasvědčují, že by v těchto případech docházelo k podstatnějším ztrátám; je však nutno i tuto domněnku ověřit kvantitativně.

Souhrn

Postup kvantitativního stanovení nannoplanktonu, jak vyplynul z naznačeného principu (n-násobné zahuštění vzorku filtrací přes membránové filtry a zpracování části zahuštěného materiálu v *B ü r k e r o v ě* komůrce) splňuje podle dosavadních zkušeností dobře požadavek rychlosti, kvantitativnosti a práce s nedeformovaným živým materiálem. U zahuštěného a přeneseného materiálu nebyly dosud pozorovány takové změny, jež by ztížily determinaci proti jiným metodám pracujícím s živým materiálem. Dosud provedená srovnání s výsledky získanými při propočtu buněk bez zahuštění materiálu nenasvědčují tomu, že by přesnost stanovení podstatně ovlivňovalo ulpívání organismů na filtrační membráně, příp. na skle. Výhodou zkoušené metody je snadná použitelnost v terénu, kde jiné metody, zvláště metoda centrifugace, narážejí na potíže technického rázu. Postup zaručuje získání dostatečného množství materiálu, a to jak k rozboru kvantitativnímu, tak i pro případné další rozborů kvalitativní.

Další propracování metody si nutně vyžaduje vyšetření použitelnosti u širšího spektra organismů než dosud mohlo být provedeno. Je možné, že jako účelnější se ukáže jiný pracovní postup, na př. silnější zahuštění vzorku na úkor přesnosti výsledku; je rovněž možné, že se metoda jako samostatná neosvědčí a že bude nutno alespoň při exaktnějších pracích zahuštění kombinovat s centrifugací, s jinou modifikací filtrační metody a pod. Poslední slovo k tomu, lze-li uvedený postup zahuštění užívat jako samostatný, mohou říci teprve další zkušenosti při použití metody v praxi.

Adresa autora: Dr Petr M a r v a n, Brno, Výzkumný ústav vodohospodářský.

Literatura.

- B a c h m a n n, H. (1926): Der Mikrofiltrierapparat von Gimesi. — Ztschr. Hydrol. 3 : 272—276, 1926.
- G o e t z, A. (1953): Application of Molecular Filter Technique to the Bacterial Assay of Sewage. Sew. Ind. Wast. 25 : 1136—1144, 1953.
- H e i n r i c h, K. (1934): Atmung u. Assimilation im freien Wasser. — Int. Rev. d. ges. Hydrobiol. 30 : 387—410, 1934.
- J a n n a s c h, W. H. (1953): Weitere Mitteilung zur quantitativen Phytoplanktonuntersuchung mit Membranfiltern. — Ber. Limnol. Flusstation Freudenthal 5 : 59—62, 1953.
- K o l k w i t z, R. (1924): Plankton-Membranfilter. — Ber. D. bot. Ges. 1924.
- P o n d e r, E. (1934): The Mammalian Red Cell and the Properties of Haemolytic Systems. Berlin 1934.
- S c h m i t z, W. (1950): Quantitative Phytoplankton-Untersuchung mit Membranfiltern. — Ber. Limnol. Flusstation Freudenthal 2 : 60—65, 1950.
- S c h m i t z, W. (1952): Zweite Mitteilung über die quantitative Phytoplankton-Untersuchung mit Membranfiltern. — Ibid. 3 : 87—88, 1952.
- S c h m i t z, W. — D o m d e y, H. (1953): Die Genauigkeit quantitativer Plankton-Untersuchungen mit dem Membranfilter-Filtrationsverfahren. Mit einem Beitrag zur Untersuchung des Werraplanktons. Ibid. 5 : 77—86, 1953.
- U t e r m o e h l, H. (1927): Untersuchungen ü. d. Gesamtplanktongehalt des Kanarenstromes. Arch. Hydrob. 18, 1927.
- U t e r m o e h l, H. (1936): Quantitative Methoden zur Untersuchung des Nannoplanktons. — In: Abderhalden, Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden Abt. IX, T. 2, 2. Hälfte: 1879—1898, 1936.
- Z s i g m o n d y, R. (1924): Über Filtration von Wasser mit Membranfiltern. — Zeitschr. f. Hygiene 102 : 97—108, 1924.
- Z s i g m o n d y, R. — B a c h m a n n, H. (1918): Über neue Filter. — Zeitschr. f. anorg. u. allgem. Chemie 103, 1918.

П. Марван:

К методике количественного определения наннопланктона мембранными фильтрами.

В настоящей работе приведены результаты некоторых экспериментов, направленных к подтверждению применения мембранных фильтров для количественного определения наннопланктона *in vivo*. По произведенным до сих пор опытам испытываемый метод отвечает (n-кратное сгущение образца фильтрацией в подходящей аппаратуре и счет организмов в части сгущенного материала на предметном стекле Бюркера) требованиям скорой и количественной обработки и работы с недеформированным живым материалом. Нами до сих пор не наблюдались такие изменения в форме и содержании клеток, которые затруднили бы определение видов. Наши сравнения с результатами прямого счета индивидуумов при отсутствии сгущения показывают, что потери организмов на фильтре и на стекле не имеют влияния на точность определения. Преимуществом метода является его легкая применимость на месте нахождения. Метод, описанный в тексте, гарантирует приобретение достаточного множества материала для количественного и качественного определения.

Дальнейшая разработка метода требует попыток с большим количеством материала.

P. Marvan:

Zur Methodik der quantitativen Nannoplankton-Untersuchung mit Hilfe von Membranfiltern.

In der vorliegenden Arbeit sind die Ergebnisse einiger Versuche, die die Anwendbarkeit der Membranfilter-Methode für die quantitativen Nannoplankton-Untersuchungen *in vivo* bestimmen sollen, zusammengefasst. Das geprüfte Verfahren — die n-malige Verdichtung der Probe durch Filtration in einer angepassten Filterapparatur (Fig. 1) und die Durchzählung eines Teiles des konzentrierten Materials in der Blut-Kammer — erfüllt den bisherigen Erfahrungen nach die Anforderungen einer schnellen und quantitativen Durchführung der Probe-Verdichtung und der Arbeit mit undeformiertem und lebendigem Material. Es wurden keine Veränderungen der Zellform und des Zellinhalts beobachtet, die die Determination erschweren könnten. Unsere Vergleiche mit den Ergebnissen der direkten Zählung der Individuen ohne die Verdichtung des Materials zeigen, dass die Genauigkeit der Bestimmung durch die Verluste auf dem Filter und Glas nicht beeinflusst werden. Ein bestimmter Vorteil der Methode besteht auch darin, dass sie leicht im Terrain angewendet werden kann. Die Durchführung, wie im Text angeführt, garantiert die Verdichtung einer genügenden Materialmenge für quantitative sowie qualitative Nannoplankton-Untersuchungen.