und gelangen, wenn das ausgesogene Deckblatt in Fetzen zerreißt, an die Außenseite der ganzen Zwiebel.

Jedenfalls sehen wir also auch hier die Brutzwiebeln auf ein Blatt „verschoben", ohne daß diese „Verschiebung" durch Gestaltveränderungen des Blattes hervortritt.

Auch bei Hyacinthus amethystinus fand ich an einigen Zwiebeln auf der Außenseite der Zwiebelschalen nahe unter deren oberem Ende eine Brutzwiebel vor. Ob hier dasselbe Verhalten vorliegt wie bei Ornithogalum caudatum, vermag ich nicht zu sagen.

Der Zellkern der Bakterien.

Von **Arthur Meyer.**

(Mit 3 Abbildungen im Text.)

Wie die Annahme, daß noch in unserer Zeit eine Urzeugung von Organismen auf der Erde möglich sei, ihre letzte Zuflucht einst bei den Bakterien fand, so hat auch die Anschauung, daß es Lebewesen ohne Zellkerne gäbe, zuletzt ihre Zuflucht bei den Cyanophyceen und den Bakterien gesucht. Für die Cyanophyceen sind meiner Meinung nach in der Tat die Zellkerne noch nicht gefunden worden, während ich die Überzeugung habe, daß ich den Kern der Bakterien richtig erkannt und beschrieben habe. Bei dem allgemeinen Interesse, welches die Frage besitzt, möchte ich hier einen Rückblick auf das bisher bekannte geben und im Anschluß daran einige neue Beobachtungen über den Zellkern der Bakterien mitteilen. Ich möchte dabei gleich von vornherein darauf aufmerksam machen, daß alle weiteren Fortschritte auf diesem Gebiete von der Auffindung großer Bakterienspezies abhängen werden, und richte deshalb an alle Bakteriologen, Botaniker und Zoologen die Bitte, auf große sporenbildende Formen zu achten und mir dieselben eventuell zu Verfügung zur stellen.

Bekanntermaßen sind im Laufe der Zeit die verschiedenartigsten Gebilde der Zelle der Bakterien für Zellkerne erklärt worden; so betrachtete noch 1904 Ruzicka die ganze Bakterienzelle als Zellkern, 1890 Wahrlich und ebenso Bütschli den ganzen Protoplasten, Löwit 1896 geschrumpfte Protoplasten, Swellgrebel 1906 gefärbtes Zytoplasma. Von ergastischen Gebilden wurden für Zellkerne gehalten die Membran (Trambusti und Galleotti 1892), Vakuolen (Schottelius 1888, Ernst 1889, Feinberg 1900, Nakanishi 1901), Volutin (Mencl 1904 usw.). Sporenanlagen hielten für Kerne Ernst 1889, Feinberg 1900, Schaudinn 1903. Die hierin gegebene Erklärung

der den unrichtigen Deutungen zugrunde liegenden Dinge habe ich auf Grundlage meiner Kenntnisse des Verhaltens des Bakterienkörpers gegen die verschiedenen Farbstoffe und Reagentien wohl durchgängig wenigstens wesentlich richtig getroffen.

Ich selbst habe im Jahre 1897 (Flora, pag. 185) in den lebenden Sporangien von Bacillus asterosporus ein etwas stärker als das Zytoplasma das Licht brechendes Körnchen entdeckt, welches ich für den Zellkern der Bakterien erklärte. Da das Gebilde sehr klein war, und ich eine Kontraktion desselben vermeiden wollte, suchte ich es ohne Fixierung zu färben und benutzte deshalb dazu Jodjodkalium oder Rutheniumrot, die beide Zellkerne der Askomyceten etwas dunkler färbten als das Zytoplasma. Ich fand mit diesen Reagentien auch im Zytoplasma der Oidien Körnchen, die ich ebenfalls für Kerne hielt. Da ich wußte, daß der sich an der Sporenbildung beteiligende Kern ein sehr kleines, als Körnchen erscheinendes Gebilde ist, kam es mir nun weiter darauf an, ihn von allen anderen, in Form kleiner Körnchen auftreten könnenden Gebilden unterscheiden zu lernen. Im Jahre 1899 (Flora, pag. 428) gelang es mir von solchen ergastischen Gebilden das Fett zu charakterisieren und die Vakuolen sowie das Glykogen für meine Zwecke besser zu erforschen. Da Fuchsin und Methylenblau die mir bis dahin genau bekannten ergastischen Gebilde der Bakterien nicht färbten, so benutzte ich diese Farbstoffe zum Färben, eventuell zum Sichtbarmachen der Zellkerne. Vorzüglich beim Fixieren mit Formol und Färben mit Fuchsin konnte ich in den relativ großen Sporen und Oidien von Bacillus tumescens Kerne auffinden. Ich sah sie jetzt in ganz jungen und älteren Sporenanlagen in Einzahl, daneben im Zytoplasma der Sporangien in Ein- oder Mehrzahl, in in Keimung begriffenen Sporen in Einzahl, in den Keimstäbchen in Ein- oder Zweizahl, in den Schwärmern meist in Mehrzahl. Es fanden sich nun aber in der Literatur noch ungeklärte Angaben über allerhand Körner und Einschlüsse, von denen mir vorzüglich diejenigen von Ernst und von Babes einer Nachuntersuchung und Klärung mit Rücksicht auf die Frage zu bedürfen schienen, ob sich unter den beschriebenen Gebilden nicht noch eine besondere Art von ergastischen Gebilden verbärge. Da die Untersuchung der Bakteriologen meist mit an Deckgläsern angetrocknetem Materiale vorgenommen worden waren, veranlaßte ich Arnold Grimme die bei den bakteriologischen Methoden der Fixierung und Färbung der Bakterien entstehenden Erscheinungen mit denen, welche bei Anwendung meiner Methoden auftreten, zu vergleichen. Es wurde bei dieser, unter meiner Leitung ausgeführten Untersuchung eine klare Er-

kenntnis der aus Volutin, einer den Fetten analogen Gruppe von Substanzen, bestehenden Körner gewonnen (Grimme, Dissertation, Marburg 1902, pag. 34), die ich später (Botanische Zeitung 1904, pag. 113) noch vertiefte. Es entstand nun die Frage, ob der von mir in den Sporenanlagen gesehene Kern oder die im Zytoplasma der Oidien und Sporangien gesehenen Kerne nicht Volutinkörner gewesen seien, da es sich herausgestellt hatte, daß das Volutin sich mit Methylenblau oder Fuchsin (wie ich später fand, auch mit Rutheniumrot) unter Umständen auch färbt; es stellte sich jedoch bei den von Grimme zu dem Zwecke der Entscheidung dieser Frage angestellten vergleichenden Versuchen heraus, daß weder der Zellkern der Sporenanlage von B. asterosporus und B. tumescens, noch die Kerne des Zytoplasmas der Oiden von B. tumescens die Volutinreaktion geben. So war nun eine Verwechslung meiner Kerne weder mit den Vakuolen noch mit den in Körnerform auftretenden Reservestoffen, also dem Fett, dem Glykogen, dem Volutin, mehr möglich.

Es seien nun kurz die Momente zusammengestellt, welche dafür sprechen, daß die von mir als Kerne angesprochenen Gebilde den pflanzlichen Zellkernen, z. B. den Zellkernen der Pilze, homologe Organe der Bakterienzelle sind. Die von mir als Kerne angesprochenen Gebilde unterscheiden sich von den allermeisten Reservestoffen und anderen ergastischen Gebilden dadurch, daß sie, wie die Zellkerne, eine relativ gleichmäßige Größe besitzen. Beständen sie aus irgend einem Reservestoffe, so würden die im Zytoplasma der Sporangien liegenden „Kerne“ ebenso wie Fett, Glygogen und Volutin bei der Sporenbildung verbraucht werden müssen. Auch ihre relativ konstante Zahl spricht dafür, daß sie Kerne sind. Am wichtigsten ist das Verhalten des Kernes der Spore. Wir sehen den Kern schon in den ganz jungen Anlagen der Spore, sehen ihn später meist nach der Mitte der Sporenanlage rücken, wo er meist in großvakuoligem Plasma liegt oder an Plasmafäden aufgehängt erscheint, und in der anschwellenden Spore liegt der Kern noch in Einzahl. Er bildet anscheinend ein Zentrum für die Sporenbildung, wie die Zellkerne in den Sporangien der Askomyceten. Dazu kommt ferner noch das mikrochemische und färberische Verhalten des Kernes. Wir werden sehen, daß der Kern durch Kochen der Bakterien mit Wasser fixiert wird, im Gegensatz zu den Volutinkörnern, die sich dabei lösen, und wir werden sehen, daß sich der Kern mit den gewöhnlichen Kernfixierungsmitteln ebenfalls fixieren und für die Färbung vorbereiten läßt. Wenn die Kernfarbstoffe durch die Mem-

bran der Zellen hindurchdringen, so werden sie auch von den Kernen besonders leicht gespeichert.

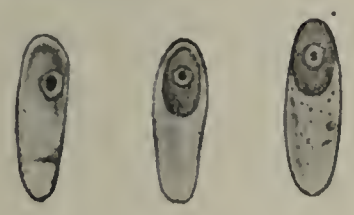
Hervorzuheben ist die Tatsache, daß Pilzkerne und Bakterienkerne sich durch Methylenblau im lebenden Zustande (Krankfärbung) leicht färben, bei Zusatz von 1%iger Schwefelsäure jedoch sofort entfärben, während die den Zellkernen der Bakterien oft sehr ähnlichen Volutinkörner, welche sich mit Methylenblau in der lebenden Zelle ebenfalls sehr leicht färben, in der verdünnten Schwefelsäure tief dunkelblau bleiben.

Ich will nun in dem Folgenden ein paar Versuche beschreiben, die ich neuerdings zur Auffindung einer besseren Methode des Nachweises der Zellkerne der Bakterien gemacht habe.

Ich benutzte zu den Versuchen die großen Sporangien von Bacillus Pasteurianus Winogradsky, da die Untersuchung dieses Spaltpilzes durch Herrn Bredemann in meinem Institute gezeigt hatte, daß er stets volutinfrei ist. Auch das Fehlen von Fett in diesem Pilze ist für manche Fixierungsmethode vorteilhaft. Das Material war auf Agar gezüchtet worden und reich an jungen Sporangien.

Versuch 1. Das Material wurde in einem Reagenzglase mit Wasser zwei Minuten lang abgekocht, in ein Spitzgläschen gegeben und zentrifugiert. Das Wasser wurde dann von dem Absatze abgehoben, auf letzteren etwas von einer Lösung von $^1/_2$ g schwefelsaurem Eisenoxydammoniak in 100 ccm Wasser gegeben und unter öfterem Umschütteln 24 Stunden darauf stehen gelassen. Darauf wurde die Eisenlösung abgeschleudert und abgehoben und etwas Hämatoxylinlösung (1 : 200) aufgegossen. Nachdem die Bakterien 24 Stunden in der Farbflüssigkeit gelegen hatten, wurden sie abgeschleudert und zur Untersuchung benutzt. Eine Öse des Materials brachte ich zuerst mit etwas der Eisenlösung unter ein Deckglas und beobachtete. Anfangs war das Zytoplasma, in dem Vakuolen und hier und da auch Körnchen lagen, und manchmal auch die Membran graublau gefärbt, die großen und kleinen Sporenanlagen dunkelblauschwarz. Bei der Differenzierung in der Eisenlösung schwand zuerst die Färbung des Zytoplasma, dann sehr langsam die der Sporenanlagen, in denen nur in einzelnen Fällen der Kern undeutlich hervortrat. Viel besser gelang die Differenzierung mittelst verdünnter wässeriger Salzsäure (fünf Tropfen auf 10 ccm Wasser). Mit der Säure entfärbte sich das Zytoplasma etwas langsamer, die Sporenanlage etwas schneller als mit der Eisenlösung. Der Kern blieb am längsten dunkel gefärbt und trat in schon ziemlich weit entwickelten Sporenanlagen sehr deutlich hervor;

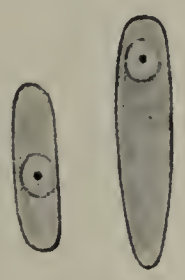
meist sah ich ihn in der Mitte der Sporenanlage von einem hellen Hofe umgeben. In Fig. 1 sind drei solche Sporangien mit den Kernen abgebildet.



Mit Wasser abgekochte, 24 Stunden in Hämatoxylinlösung gelegene, dann mit verdünnter Salzsäure behandelte Sporangien. Die Kerne der Sporenanlagen treten deutlich hervor. Vergrößerung 2500.

Fig. 1.

Versuch 2. Das Bakterienmaterial wurde mit Wasser gewaschen, zentrifugiert, dann in dem Spitzglase mit Flemmings Lösung (1 + 1) drei Stunde behandelt, zentrifugiert, mit Wasser auf der Zentrifuge sechsmal gewaschen, dann innerhalb 2—3 Tagen tropfenweise Alkohol bis zu 20% der Flüssigkeit hinzugefügt. In einem Spitzglase der Zentrifuge wurde nun zuerst das fixierte Material mit einem Gemische vnn 1 Volumen Delafieldschem Hämatoxylin + 1 Volumen Wasser übergossen, 24 Stunden stehen gelassen, dann abgeschleudert. Von dem gefärbten Material wurde etwas in einen Tropfen einer Mischung von 10 ccm 10%igem Alkohol und drei Tropfen 1%igem Salzsäurealkohol gebracht. Bei der Differenzierung treten die Kerne in den Sporenanlagen gut hervor; sie liegen meist in einer helleren, kreisrunden Stelle und erscheinen als scharf umschriebene, dunkle Punkte, (Fig. 2). Das Zytoplasma erscheint dabei hellblau, die Membran etwas dunkler blau gefärbt.



Mit Flemmings Lösung fixierte, mit 20%igem Alkohol gehärtete, mittelst Delafieldschem Hämatoxylin gefärbte und mit Salzsäurealkohol differenzierte Sporangien von Bacillus Pasteurianus. Die Größe des Zellkernes ist sehr genau gezeichnet. Vergrößerung 2500.

Fig. 2.

Versuch 3. Das wie in dem vorigen Versuche fixierte und mit Alkohol gehärtete Material wurde mit Eisenhämatoxylin gefärbt. Es blieb zuerst 24 Stunden in der im Spitzglase befindlichen Eisenlösung, wurde dann nach sorgfältigem Abschleudern und nach Abheben der Eisenlösung mit der Hämatoxylinlösung übergossen und 24 Stunden in dieser belassen. Von der abgeschleuderten, feuchten Bakterienmasse wurde dann etwas unter dem Deckglase direkt mit der Eisenlösung differenziert. Wenn man den Differenzierungsprozeß sorgfältig kontinuierlich beobachtet, so sieht man bald in kleinen und großen Sporenanlagen den Kern als dunklen, gefärbten Punkt hervortreten (Fig. 3), zugleich erkennt man im Laufe der Beobachtung der Differenzierung häufig,

daß die größeren Sporenanlagen innen vakuolig sind, und daß in ihnen der Kern im Zentrum einer kleinen zentralen Plasmaanhäufung liegt (Fig. 3 *b* und *c*). Manchmal treten auch im gut fixierten Zytoplasma der Sporangien und Oidien Kerne hervor (Fig. 3 *a*, *b*, *c*). Die Kerne sehen bei jeder Einstellung mehr oder weniger dunkel aus, die Vakuolen in manchen Fällen bei hoher Einstellung ebenfalls dunkel, bei tiefer jedoch immer hell.



Fig. 3.

Sporangien von Bacillus Pasteurianus mit Flemmings Lösung fixiert, mit Alkohol gehärtet, mit Eisenhämatoxylin gefärbt, mit Ferriammoniumsulfat unter dem Deckglase differenziert. In *b* und *c* die Sporenanlagen mit zentral im vakuoligen Sporenplasma liegendem Kerne; in *a*, *b* und *c* im Zytoplasma des Sporangiums ein Kern. Vergrößerung 2500.

Die mit den verschiedensten Methoden von mir in den Bakterien nachgewiesenen Zellkerne besitzen, wie aus den Abbildungen hervorgeht, einen Durchmesser von ungefähr 0,3 μ. Wenn sie sich, wie zu vermuten, durch indirekte Kernteilung vermehren, so muß es uns unmöglich sein, den Teilungsvorgang zu beobachten, denn Körnchen von 0,1 μ, wie sie dann in den Chromatinmassen vorliegen würden, könnten wir mit unseren Instrumenten nicht mehr sehen. So müssen wir, wie gesagt, mit der weiteren Erforschung der Bakterienkerne warten, bis uns größere Bakterienspezies zugänglich sind. Es würde dann außer der Frage der Kernteilung besonders auch die Frage der Kernverschmelzung in den Sporenanlagen in das Auge zu fassen sein.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Flora oder Allgemeine Botanische Zeitung

Jahr/Year: 1908

Band/Volume: 98

Autor(en)/Author(s): Meyer Arthur

Artikel/Article: Der Zellkern der Bakterien 336-340