Zur Physiologie des Dictyostelium mucoroides.

Von

George Potts, B. Sc. (Dun.).

Hierzu 4 Textfiguren.

Die Myxomyceten, die bekanntlich auf der Grenze zwischen Thier- und Pflanzenreich stehen, haben sowohl für Botaniker als für Zoologen ein grosses wissenschaftliches Interesse. Die typischen Vertreter der Familie gleichen den Thieren darin, dass sie feste Nahrung aufnehmen können, während ihre Fortpflanzung die der Pflanzen ist.

Dictyostelium mucoroides wurde 1869 von Brefeld bei Halle auf Pferdemist wachsend gefunden. Brefeld (1)[1]) hatte das Verdienst, durch Cultur von *Dictyostelium* dessen Lebensgeschichte und alle wesentlichen morphologischen Merkmale ausser dem des Pseudoplasmodiums zu entdecken. Die Arbeit beschäftigt sich auch mit der Ernährung des D. m. Die auffallende Structur des Plasmodiums wurde erst von Van Tieghem (9) 1880 entdeckt. Van Tieghem war auch der erste, welcher nachwies, dass jede Stengelzelle und jede Spore je von einer einzelnen Amöbe herstamme. Vier Jahre später wurden die beiden Van Tieghem'schen Entdeckungen durch die zweite Brefeld'sche Abhandlung (2) constatirt. Etwas später veröffentlichte Grimm (3) eine Arbeit, in der er den Bau und die Theilung des Kernes beschrieb. Nadson (4) hat 1899 D. m. auf mehreren künstlichen Medien gezüchtet, will auch eine absolute Reincultur bekommen haben, obgleich er fand, dass D. m. sich viel üppiger entwickelte, wenn Bacterien vorhanden waren, besonders *Bact. fluor. liq.*, zwischen dem und D. m. eine Symbiose bestehen soll.

Die aus den Angaben der oben angeführten Autoren hervorgehende Lebensgeschichte dieses Organismus (s. Fig. 1), über die sich jedermann selbst in wenigen Tagen unterrichten kann, wenn er ihn in einem Tropfen Pferdedungextract züchtet, ist folgende: Die Sporen keimen und erzeugen Amöben, die wachsen und sich eine Zeit lang theilen. Dann nehmen die Amöben eine charakteristische länglich-flache Form an und legen sich zu bandähnlichen Protoplasmamassen zusammen, die sich strahlenförmig um das Centrum gruppiren,

1) Die eingeklammerten Zahlen beziehen sich auf die Litteraturangaben am Ende der Arbeit.

Universitätsbibliothek Regensburg urn:nbn:de:bvb:355-ubr05174-0285-2

um welches die Amöben sich zu häufen begonnen hatten. Die Fäden oder Bänder sammeln sich zu langen fliessenden Armen, die nach und nach in die Hauptmasse übergehen.

Die Erscheinung des D. m. in dem plasmodischen Stadium ist sehr charakteristisch und unvergesslich für jeden, der sie einmal gesehen hat. Man kann sie mit dem Wurzelsystem einer Fichte ver-

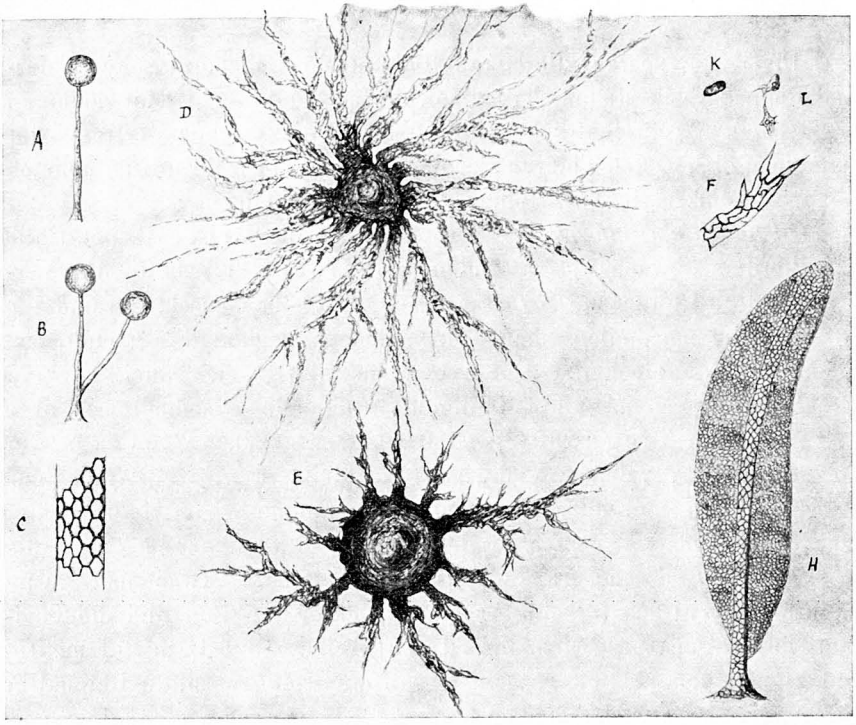


Fig. 1. Dictyostelium mucoroides. — *A* Frucht ohne Aeste. — *B* Frucht mit Ast. — *C* Stück des Stengels im optischen Durchschnitt bei stärkerer Vergrösserung. — *D* Pseudoplasmodium im ersten Stadium.[1]) — *E* Pseudoplasmodium im späteren Stadium.[1]) — *F* Stück des Pseudoplasmodiums bei stärkerer Vergrösserung. — *H* Hinaufkriechen des Pseudoplasmodiums an dem sich entwickelnden Stengel. Im optischen Durchschnitt gezeichnet. — *K* Spore. — *L* Amöben mit Kern und Vacuole.

gleichen. Die horizontalen Wurzeln werden durch die fliessenden Arme des Plasmodiums vertreten und die Hauptmasse der Amöben gleicht der Grundfläche des Stammes. Die Aufhäufung der Amöben

1) Die Aufzeichnungen *D*, *E* und *H* wurden mit Hilfe des Brefeld'schen *Polysphondylium violaceum* gezeichnet.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05174-0286-8

bringt sie in Berührung mit der Luft, worauf sich der Stengel bildet. Während der Sporangiumträger länger wird, kriecht der Rest des Plasmodiums an ihm entlang und sammelt sich endlich auf einen Haufen an der Spitze, um sich schliesslich in eine Sporenmasse zu verwandeln. Die für den ganzen Lebensgang nöthige Zeit beträgt durchschnittlich 3—5 Tage.

D. m. unterscheidet sich in manchen wichtigen Punkten von den typischen Vertretern seiner Familie. Vor allen Dingen kennt es kein Schwärmsporenstadium, d. h. die Amöben sind zu keiner Zeit mit Flagellen versehen. Weiter verschlingt D. m. keine Bacterien. Ein grosser Unterschied liegt in dem sog. „Plasmodium"; denn obgleich die Amöben sich sammeln, wird doch kein Plasmodium im wahren Sinne des Wortes gebildet, da keine Fusion der Amöben stattfindet und die gesammelte Amöbenmasse thatsächlich nur ein Pseudoplasmodium ist. Man überzeugt sich davon, wenn man ein Deckgläschen über ein in der Entwickelung begriffenes Plasmodium legt und einen leichten Druck ausübt, — in allen Stadien, von der ersten Bildung der oben beschriebenen bandähnlichen Massen von Protoplasma an bis zur vollendeten Bildung der letzten Spore, genügt ein schwacher Druck, um den zurückbleibenden Theil des Pseudoplasmodiums in die einzelnen Amöben zu zertheilen. Die charakteristische Gestalt der Amöben vor ihrem Zusammenschluss ist in dem Plasmodialstadium beibehalten und wenn man einen Tropfen, der solch ein Plasmodium enthält, rasch verdunsten lässt, so kann man das Plasmodium sich in die einzelnen Amöben, die dann zu Grunde gehen, zertheilen sehen. Die Amöben behalten ihre Individualität in jeder Hinsicht: Die Zellen des Sporangiumträgers werden jede von einer einzelnen Amöbe gebildet, ebenso sogar die Sporen. So auffällig schon diese Eigenschaft des Plasmodiums ist, es hat einen noch viel wichtigeren Charakter, nämlich seinen flüchtigen Bestand. In einem echten Plasmodium, wie es bei den typischen Vertretern der Familie zu finden ist, strömen die Amöben ineinander, sie verschmelzen mit einander und bilden eine einzige einheitliche Masse von Protoplasma, die nicht wieder in die einzelnen Amöben, aus denen sie gebildet wurde, zerlegt werden kann. Solch ein echtes Plasmodium ist das hauptsächlichste Ernährungsstadium und dauert eine ganze Reihe von Tagen, während welcher es Nahrung aufspeichert. Es ist in fortgesetzter Bewegung, und zwar in einer zwiefach gearteten: einer vorschreitenden Fortbewegung des ganzen Plasmodiums und einer inneren Circulation des Protoplasmas, besonders in den Adern. Das Pseudoplasmodium von D. m. hat keine Vorwärtsbewegung des

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05174-0287-4

Ganzen vermittelst Pseudopodien und auch keine rythmische Circulation seines Protoplasmas, und es findet wahrscheinlich in diesem Stadium keine Ernährung statt; es scheint lediglich ein nothwendiger Vorläufer der Sporenbildung. Seine ganze Existenz, von der ersten Vereinigung der Amöben an bis zu der Sporenbildung, dauert nur wenige Stunden. Das Gesagte zeigt, dass das Plasmodium von D. m. sowohl morphologisch als physiologisch von dem anderer Myxomyceten wesentlich verschieden ist. Die Sporenmasse an der Spitze des Stengels — das Sporangium — hat weder ein Kapillitium noch eine Wand.

Es soll nun der Einfluss der hauptsächlichen äusseren Umstände auf das Wachsthum von D. m. in folgender Reihenfolge erörtert werden:

I. Einfluss der Zusammensetzung des Nährmediums.
II. Einfluss von Feuchtigkeit und Sauerstoff.
III. Einfluss anderer äusserer Umstände, nämlich der Temperatur, des Lichtes und der Reaction des Ernährungsmediums.
IV. Recapitulation und allgemeine Betrachtungen.

I. Einfluss der Zusammensetzung des Nährmediums.

Ueber die Ernährung der Myxomyceten gibt es sehr wenig Litteratur. Der Grund für ihre Vernachlässigung nach dieser Seite hin liegt in der Schwierigkeit, eine Reincultur zu erhalten. In Anbetracht der endosmotischen Ernährung des D. m., seines schnellen Wachsthums und seines hervorstehenden Sporangiums, das am Ende eines Stengels sitzt und so von dem Substrat frei ist, könnte man, wenn es für einen Myxomyceten möglich wäre, ohne Bacterien zu leben, erwarten, eine bacterienfreie Cultur von ihm zu bekommen.

Zunächst wurden Experimente gemacht, um über die beste Züchtung von D. m. Gewissheit zu erlangen. In der Natur erscheint D. m. auf Pferde- oder Kaninchenmist und es zeigte sich, dass es auf sterilisirtem Pferdemist künstlich zum Wachsen gebracht werden kann, ebenso in Extracten davon in hängenden Tropfen, in Schalen und auf nahrungshaltigem, aus Mist hergestelltem Agar oder Gelatinen.[1]) Ob in hängenden Tropfen, in Flüssigkeiten in Schalen oder auf festen Medien gezüchtet — eine normale Frucht wird nur in der Luft hervorgebracht und man sieht die Fruchtentwickelungen sofort über die Oberfläche des Mediums hervorragen. Weitere Ver-

1) Bei einer Züchtung in Flüssigkeiten muss man darauf achten, dass die Flüssigkeit nicht zu tief ist — nicht über 10 mm.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05174-0288-9

suche ergaben jedoch, dass es besser auf einem aus dem Stengel von *Vicia Faba* gemachten Agar wuchs und noch besser auf Medien — Extract, Gelatine, oder Agar — aus Maiskörnern. Zuerst wurde die gewöhnliche Methode angewendet, die flüssig gemachten Agar oder Gelatinen in Reagenzgläsern geimpft und dann in Petri-Schalen ausgegossen. Das so gesäte D. m. wuchs nicht zur Zufriedenheit, die Zahl der pro Platte hervorgebrachten Sporangien schwankte äusserst stark und stand in keinem Verhältniss zu den gesäten Sporen. Eine sorgfältigere Beobachtung ergab, dass normale Sporangien nur erzeugt wurden von Sporen, die sich auf oder dicht unter der Oberfläche befanden und dass Sporen, die tiefer in dem festen Substrat lagen, entweder nicht keimten oder dass die Amöben nicht zur Fruchtbildung an die Oberfläche gelangen konnten. Mit Rücksicht darauf wurden Sporangien in sterilisirtes Wasser geschüttelt. Das Wasser wurde dann verdünnt und über das erstarrte Ernährungsmedium ausgegossen. Diese Methode zeigte sich sehr geeignet, da auf guten Medien die Platte sich mit Sporangien buchstäblich besät. Bei allen festen Medien — sowohl Gelatine wie Agar — wurden in Zukunft die Sporen auf die feste Oberfläche gesät.

Die ersten Versuche, D. m. von Bacterien zu isoliren, wurden auf Maisagar gemacht. Durch die Wahl von Sporangien, die die wenigsten Bacterienkolonien in ihrer unmittelbaren Nachbarschaft hatten und durch ihre Benutzung zur Herstellung der nächsten Agarcultur wurde ein Material gewonnen, das anscheinend bacterienfrei war; wenigstens ergab eine mikroskopische Untersuchung keine Bacterien und man sah auch keine makroskopischen Bacterienprodukte. Zum Zwecke einer weiteren Prüfung der Reinheit einer dieser anscheinend bacterienfreien Culturen wurde sie auf einen reichen Peptonagar gesät; überraschenderweise bedeckte sich die neue Platte in kurzer Zeit mit Bacterienkolonien, ohne dass sich ein D. m. zeigte.[1]) Die Culturen von D. m. auf Maisagar waren somit scheinbar bacterienfrei gewesen, weil die Bacterien nicht hinreichend entwickelt gewesen waren, um die Kolonien auf der feuchten Oberfläche des Agar makroskopisch sichtbar zu machen. Da sich Agar als nicht zum Ziele führend zeigte, wurden die Versuche zur Isolirung von D. m. zunächst auf Maisgelatine angestellt. Hier traten die Bacterien sehr stark hervor und es war leicht zu sehen, dass D. m. nirgends er-

1) Später erwies es sich, dass das Fehlen von D. m. an der Produktion schädlicher Substanzen durch die Bacterien lag.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05174-0289-8

schien, ausser thatsächlich in ihren Kolonien. Fortgesetzte Bemühungen, von den Bacterien loszukommen, erwiesen sich als nutzlos und ich entschied mich endlich dafür, danach zu streben, D. m. mit einer einzelnen Bacteriumspecies zu isoliren. Dies gelang schliesslich, und das Bacterium, das eine bislang unbeschriebene Species zu sein scheint, wird für jetzt *Bacterium fimbriatum* (Bact. fimbr.) genannt werden.

Bei den oben beschriebenen Culturen auf Maisgelatine blieben einige Platten unfruchtbar — brachten weder Bacterien noch D. m. hervor. Das regte den Gedanken an, dass solche Platten eine günstige Gelegenheit böten, um zu prüfen, ob Bact. fimbr. thatsächlich zur Entwickelung von D. m. nöthig wäre, oder ob die scheinbare Abhängigkeit des D. m. von diesem Bacterium auf Rechnung des Unvermögens, von diesem letzteren loszukommen, zu setzen wäre. Eine Reincultur von Bact. fimbr. ohne D. wurde hergestellt und jene Platten, die unfruchtbar geblieben waren, wurden nun mit diesem Bacterium geimpft, indem dieses in Wasser geschüttelt und dann auf die Gelatine gegossen wurde. Dieser Versuch wurde mit acht Platten ausgeführt und, obgleich Bact. fimbr. auf allen wuchs, erschien D. nur auf drei. Zur Vergewisserung, dass keine D.-Sporen zugleich mit Bact. fimbr. gesät waren, wurden Controlplatten benutzt und weiterhin wurde der Verunreinigung der Culturen durch D. m. aus der Luft dadurch vorgebeugt, dass die Impfungen in einem vorher sterilisirten Kasten vorgenommen wurden. Dieser Versuch ergab, dass auf Maisgelatine das Vorhandensein von Bacterien für das Wachsthum von D. m. nötig ist; denn es war nicht zur Fruchtentwickelung fähig, bevor Bacterien zugesetzt wurden. Dass Bacterien sogar für das Keimen der Sporen von D. m. nöthig seien, lässt sich aus diesem Versuch nicht ersehen, denn selbst unter den günstigsten Umständen (d. h. mit Bacterien) keimt ein grosser Procentsatz von Sporen nicht unmittelbar und die obigen Exemplare von D. m. sind vielleicht aus solchen ungekeimten Sporen hervorgegangen, die erst durch einen Zusatz von Wasser zum Keimen gebracht wurden.[1]) Hätten einige der Sporen vor der Hinzufügung von Bact. fimbr. gekeimt, so hätten die Amöben untergehen müssen, denn Sporangienbildung ohne Bacterien ist ausgeschlossen und Cystenbildung fehlt bei D. m. (s. u.). Von den acht Platten, die für dieses Experiment benutzt

1) Aus einem Nadson'schen (4) Experiment, das später angegeben werden wird, folgt, dass Bacterien zum Keimen der D.-Sporen nicht nöthig sind.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05174-0290-2

und unfruchtbar geblieben waren, hatten drei offenbar D.-Sporen enthalten, aber keine Bacterien und die anderen fünf hatten zwar keine Bacterien, aber auch keine D.-Sporen.

Nachdem gezeigt ist, dass auf Maisgelatine Bacterien für das Wachsthum von D. m. nothwendig sind, erhebt sich eine ganze Reihe von weiteren Fragen, z. B.: Worin besteht die Thätigkeit des Bacteriums? Ist es auf allen Medien nöthig? u. s. w. Die wechselseitigen Beziehungen von Bact. fimbr. und D. m., die alle solche Fragen einschliessen, werden später erörtert werden.

Zur Reaction bevorzugt D. m. ein schwach alkalisches Medium; es kann aber auch auf Medien wachsen, deren Reaction von schwachem Säuregehalt bis zu ausgesprochen alkalischer Beschaffenheit variirt. Alle Medien wurden neutralisirt, bevor sie geimpft und einer Temperatur von 16—24° C. ausgesetzt. Da zwischen den Sporen von D. m. Bacterien auftreten, wird es verständlich sein, dass, wo immer D. m. gesät wurde, notwendig zugleich Bacterien und zwar in diesem Falle Bact. fimbr. mitgesät wurden.

Den Rest dieses Theiles will ich nun wieder in zwei Abschnitte zerlegen: Der 1. Abschnitt beschäftigt sich mit der chemischen Composition des Ernährungsmediums. Der 2. Abschnitt behandelt die Beziehungen zwischen Bact. fimbr. und D. m.

1. Abschnitt.

Der zunächst untersuchte Punkt betraf die für das Keimen nothwendigen Bedingungen. Die Versuche zeigten, dass Phosphate, organische Verbindungen und Sauerstoff in Verbindung mit Wasser für das Keimen von D.-Sporen erforderlich sind. Destillirtes Wasser wurde als lösendes Mittel verwendet, da in ihm keinerlei Keimen stattfand, wohingegen in Leitungswasser etwa 10 % Sporen keimten. Kein Keimen fand statt in Rohrzucker (rein, krystallisirt) und auch nicht in Knop'scher Lösung, aber eine Lösung, die beides enthielt, genügte völlig für diesen Zweck. Die verschiedenen Salze, aus denen sich die Knop'sche Lösung zusammensetzt, nämlich $Ca(NO_3)_2$, K_3PO_4, $MgSO_4$ und KNO_3, wurden dann der Reihe nach zu Rohrzucker zugesetzt und das Ergebniss war, dass kein Keimen stattfand in Rohrzucker mit KNO_3, $Ca(NO_3)_2$ oder $MgSO_4$, dass aber in Rohrzucker + K_3PO_4 das Keimen so gut vor sich ging wie in der Mischung von Rohrzucker und Knop's Lösung. Weitere Versuche erwiesen, dass K_3PO_4 mit gleich gutem Erfolge durch andere lösliche Phosphate ersetzt werden konnte, woraus sich ergibt, dass Phosphat

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05174-0291-8

der für die Keimung wesentliche Bestandtheil von Knop's Mischung ist. Eine Gelegenheit, dies Ergebniss zu bestätigen, lieferten Versuche auf mit HCl ausgelaugtem Agar (siehe später).

Die Nothwendigkeit von organischen Verbindungen für das Keimen ist dadurch erwiesen, dass in K_3PO_4 und sogar in Knop's Lösung kein Keimen stattfindet; wenn man aber ein wenig von irgend einer organischen Masse hinzufügt, wie Kohlehydrate, Asparagin, Leucin u. s. w. — seien sie stickstoffhaltig oder nicht —, so keimen die Sporen gut. Die benöthigte Quantität organischer Materie ist sehr klein; die in Leitungswasser vorhandene Menge genügt, wie das gute Keimen in Leitungswasser + K_3PO_4 zeigt. Welcher Art diese Substanzen sind, liess sich bei ihrer geringen Menge nicht ermitteln. Dieser Punkt ist auch von geringer Bedeutung, da mit D. m. stets Bacterien vereinigt auftreten und daher die Frage ungelöst bleiben muss, ob die besagten organischen Substanzen direct auf D. m. fördernd einwirken oder ob sie die Zunahme der Bacterien und ihrer für D. m. nützlichen Stoffwechselprodukte beeinflussen. Die Nothwendigkeit von freiem Sauerstoff wird an im nächsten Abschnitt beschriebenen Versuchen gezeigt werden.

Jetzt galt der nächste Schritt der Ermittelung der für die Fruchtproduktion erforderlichen chemischen Elemente. Von den folgenden sechs anorganischen Elementen: N, K, P, Mg, S und Ca wurden Lösungen, die je fünf von ihnen enthielten, zubereitet, so dass eine Lösung alle ausser N, eine andere alle ausser K u. s. w. enthielt. Zu jeder dieser, fünf anorganische Elemente enthaltenden, Lösungen wurde Rohrzucker zugesetzt. In der nicht P-haltigen Lösung keimten die Sporen nicht und bestätigten so die früheren Versuche betreffs des Keimens. In der Lösung ohne N keimten zwar die Sporen, Fruchtbildung blieb aber meist aus, da die Amöben nach und nach eingingen. K, Ca, S oder Mg konnten ohne sichtbaren Nachtheil für D. m. fortgelassen werden. Selbst wenn es ohne eines dieser vier Elemente gezüchtet wurde, gedieh es durch drei auf einander folgende Generationen ganz gut und die Frage nach ihrer Nothwendigkeit musste unentschieden bleiben, weil, wenn sie nothwendig sind, die in den Sporen enthaltenen und die bei anderen Salzen als Verunreinigungen begegnenden Spuren völlig zu genügen scheinen.

Sodann wurde bestimmt, welche C- und N-Quellen bei D. m. und Bact. fimbr. verwendbar seien. Für Organismen, die in Flüssigkeiten gut wachsen, ist die Frage durch Culturen in flüssigen Medien am leichtesten zu beantworten. Die präparirten

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05174-0292-4

Lösungen wurden neutralisirt und dann etwa 50 ccm von einer jeden in eine Erlenmeyer'sche Flasche, die mit Bact. fimbr. allein geimpft war und in eine Dose gegossen. Die Flüssigkeit, etwa 20 ccm, stand in den Dosen ungefähr 10 mm hoch und diese wurden mit D. m. und Bact. fimbr. zusammen geimpft. Die beiden parallelen Reihen von Züchtungen — von a) Bact. fimbr. allein und b) Bact. fimbr. mit D. m. — wurden unternommen, um die Wirkung der Eigenschaften des Ernährungsmediums auf D. m. zu bestimmen. Denn da D. m. nicht allein gezüchtet, die Frage also nicht direct beantwortet werden konnte, so verschaffte sich der Gedanke Geltung, ob nicht eine Vergleichung der Ergebnisse der beiden Reihen zu der gewünschten Erkenntniss führen könnte. Das Wachsthum von Bact. fimbr. in der Erlenmeyer'schen Flasche wurde nach etwa 14 Tagen abgeschätzt und die endliche Reaction der Lösung geprüft. Die Entwickelung von D. m. war in allen Fällen nach Ablauf von acht, höchstens zehn Tagen beendet.

Wenn D. m., wie oben beschrieben, auf Maisextrakt in Dosen gesät wird, trägt es in der Zeit von 4—5 Tagen Frucht; wenn aber einige der Amöben am zweiten oder dritten Tage entfernt und in frischen Maisextrakt übertragen werden, vermehren sie sich in diesem und wenn dieser Process alle zwei oder drei Tage wiederholt wird, fahren die Amöben in der vegetativen Vermehrung fort und bilden keine Plasmodien. Dieser Versuch kann als die Grundlage für die Schätzung des relativen Nährwerthes verschiedener Medien gelten, denn wir sehen daraus, dass eine Plasmodiumbildung erst stattfindet, wenn der Nahrungsvorrath zur Neige geht, und dass die Amöben, wenn die Umstände günstig sind, im Wachsthum und in der Theilung fortfahren, bis solcher Mangel fühlbar wird. Daraus erhellt, dass, wenn die Bedingungen für das Wachsthum erfüllt sind, die Anzahl und Grösse der Plasmodien und sodann die Anzahl und Grösse der Sporangien ein gutes Kriterium für den Nährwerth irgend eines Mediums abgeben. Bei der Berechnung des Wachsthums von D. m. wurde sowohl die Anzahl der Sporangien pro Flächeneinheit, als auch ihre relative Grösse in Betracht gezogen. Keiner von diesen beiden Factoren ermöglicht allein ein zuverlässiges Urtheil über die Qualität des Ernährungsmediums, da in P-haltigem Leitungswasser die Oberfläche gelegentlich mit kleinen Sporangien buchstäblich besät ist und da (s. u.) die relative Luftfeuchtigkeit der wichtigste Factor für die Bestimmung der Länge des Stengels ist. Kurz, die Berechnung des D.-Wachsthums konnte nicht ganz genau ausgeführt werden. Für

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05174-0293-0

beide Organismen wurde die Stärke des Wachsthums in 4, durch Nummern unterschiedene Klassen geordnet: 0 = kein, I = schwaches, II = mittelmässiges, III = starkes Wachsthum. Die bei D. m. erreichte Maximalentwickelung betrug, sowohl in Flüssigkeiten wie auf festen Medien, 30 grosse Fructificationen auf einem Felde von 4 mm Durchmesser.

Die Geschwindigkeit des Wachsthums und der Fruchtbildung und die reichliche Grösse der Sporangien, die sich mit blossem Auge erkennen lassen, machen D. m. sehr geeignet für solche Versuche. Ein grosses Hinderniss jedoch liegt in den geringen Anforderungen, die die Fructification an die Ernährung stellt. Es ist von Van Tieghem für *Absidia* (6) und von Klebs für *Mucor racemosus* (7) constatirt, dass das von den zur Impfung benutzten Sporen getragene Ernährungsmaterial für eine schwache Fructification genügt; dasselbe gilt für D. m. Als Beleg dafür, eine wie geringe Nahrungsmenge D. m. erfordert, mag angeführt werden, dass, wenn nicht zu wenig Sporen gesät werden, eine kleine Menge von Zwerg-Sporangien in P-haltigem Leitungswasser producirt wird und ebenso auf reinem Agar.[1]) Diese Stärke des Wachsthums in den oben erwähnten und ähnlichen Fällen ist in den folgenden Tabellen mit 0—I bezeichnet. Ein mit 0 bezeichnetes D.-Wachsthum bedeutet, dass überhaupt keine Sporangien gebildet wurden, und in solchen Fällen müssen die ursprünglichen Nahrungsmaterialien oder ihre durch das Bacteriumwachsthum hervorgebrachten Produkte eine schädliche Wirkung auf D. m. gehabt und sein Wachsthum völlig verhindert haben. Alle Experimente wurden durch die ganze Untersuchung hin wenigstens zwei Mal gemacht. Zur Bestimmung des N-Nährwerthes der in Tabelle I angegebenen Substanzen wurden diese der Reihe nach einer Mischung von anorganischen Salzen (K_3PO_4 0,05 % + $MgSO_4$ 0,05 %)

1) In Medien, die keine Nahrung enthalten, hängt die Fruchtproduktion von der Zahl der gesäten Sporen ab. Wenn sehr wenig Sporen gesät sind, trägt D. m. keine Frucht; wenn viel gesät sind, bringt es Frucht und in diesem Falle begegnen die Amöben einem Nahrungsmangel fast unmittelbar nach dem Keimen und bilden daher sofort Plasmodien und tragen Frucht. Wenn keine Vermehrung der Amöben stattgefunden hat, ist die producirte Zahl von Sporen um die Zahl der bei der Stengelbildung verbrauchten kleiner als die der ursprünglich gesäten. Aus einem solchen Versuch ziehen wir den wichtigen Schluss, dass die Amöben zum Fruchttragen nicht eine ganze Reihe von Theilungen durchzumachen brauchen, sondern direct zur Sporenbildung übergehen können, d. h. dass vegetative Vermehrung kein nothwendiger Vorläufer der Sporenbildung ist.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05174-0294-6

und 0,2 % Rohrzucker zugesetzt. Rohrzucker (rein, krystallisirt) wurde durchgehend als C-Quelle benutzt, da einleitende Versuche ihn als für diesen Zweck geeignet erwiesen.

Tabelle I. — Stickstoffverbindungen.

		Wachsthum des D. m.	Wachsthum d. Bact. fimbr.	Endliche Reaction
Kalium nitricum	0,1 %	II	II	sauer
Ammonium sulphuricum	0,1 %	I—II	I—II	„
Asparagin	0,1 %	0	III	alkalisch
Leucin	0,1 %	III	III	sauer
Glycocoll	0,1 %	0	0	
Pepton	0,05 %	0—I	III	sauer
Pepton	0,1 %	0	III	„
Fibrin	gesättigt	0—I	0—I	neutral
Syntonin	„	I	I	„
Legumin	„	II—III	II—III	schwach sauer
Casein	„	II—III	II—III	„ „
Nuclein	„	II—III	II—III	„ „
Harnsäure	„	II—III	II—III	„ „
Hippursaures Natron	0,1 %	I	I—II	alkalisch
Harnstoff	0,1 %	0	0	
Urethan	0,1 %	0—I	I—II	neutral
Acetamid	0,1 %	0—I	I	alkalisch
Kreatin	0,1 %	0	I	neutral

Obgleich weder Nitrat noch Ammoniak besonders gute N-Quellen waren, erwies sich doch NH_4NO_3 als ausgezeichnet[1]), sowohl für Bact. fimbr. als auch für D. m. und wurde deswegen bei den folgenden Versuchen (Tabelle II) über den relativen C-Nährwerth von verschiedenen Verbindungen durchgehend als N-Quelle benutzt. 0,1 % $AmNO_3$ wurden mit K_3PO_4 und $MgSO_4$ zusammengenommen.

1) Die Thatsache, dass NH_4NO_3 für Bact. fimbr. und andere niedere Organismen eine bessere N-Quelle als Nitrat oder Ammoniak ist, erklärt sich offenbar daraus, dass es N in zwei verschiedenen Formen enthält und ist im Gebiet der Agriculturchemie nicht ohne Parallelen. So hat man gefunden, dass die höheren Pflanzen kräftiger wachsen, wenn sie mit künstlichem N in mehreren verschiedenen Zusammensetzungen gedüngt werden, als wenn sie ihn nur in einer einzigen Form erhalten. Und Vieh gedeiht anerkanntermassen besser, wenn es mit einer wohlüberlegten Mischung von verschiedenen Nahrungsmitteln gefüttert wird, d. h. wenn die Eiweissstoffe, die Kohlehydrate und die Oele in verschiedenen Formen angeboten werden, als wenn sie nur ein einziges Futter bekommen.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05174-0295-2

Tabelle II. — Kohlenstoffverbindungen.

		Wachsthum des D. m.	Wachsthum d. Bact. fimbr.	Endliche Reaction
Traubenzucker	0,2%	II—III	III	sauer
Levulose	0,2%	II—III	III	„
Galactose	0,2%	II—III	III	„
Maltose	0,2%	III	III	„
Rohrzucker	0,2%	II—III	III	„
Dextrin	0,2%	II	I	neutral
Inulin	0,2%	I—II	0—I	„
Amylum (löslich)	0,2%	0—I	0—I	„
Glycerin	1%	II	III	sauer
Citronsäure (citronsaures Kalium)	0,2%	0	II	stark alkalisch
Weinsäure (weinsaures Kalium)	0,2%	0	0	
Apfelsäure (Calcium bimalicum)	0,2%	0	II	stark alkalisch
Isodulcit	0,2%	I—II	I	neutral
Erythrit	0,2%	0—I	I	„
Arabinose	0,2%	0—I	I	„
Sorbin	0,2%	0—I	I	„
Mannit	0,2%	I	I	„
Humussäure (humussaur. Natron)	0,2%	0—I	0—I	„
Ulmussäure (ulmussaur. Natron)	0,2%	0—I	0—I	„
Natrium stearicum	0,1%	0—I	0—I	„
Olivenöl		0—I	0—I	„

In der Absicht, zu prüfen, ob die organischen Substanzen von Tabelle I, die sich als gute N-Quelle erwiesen hatten, auch gute C-Quellen wären, wurden ihnen K_3PO_4 und $MgSO_4$ zugesetzt. In den weniger löslichen Eiweisssubstanzen, nämlich Fibrin, Syntonin, Legumin, Casein und Nuclein war das Wachsthum von D. m. sowohl wie von Bact. fimbr. sehr schwach (0—I), so dass sie für beide Organismen keine C-Quellen waren. Ebenso war der C von Harnsäure und Asparagin bei beiden nicht verwendbar. Dagegen war das Wachsthum von Bact. fimbr. in Pepton allein ausgezeichnet (III). Leucin erwies sich als eine ausgezeichnete C- wie N-Quelle für beide Organismen. Die Versuche der Tabelle II wurden an Stelle von NH_4NO_3 mit Legumin, dessen C nicht verwendbar ist, wiederholt und das Endergebniss bestätigte die bereits erhaltenen Resultate (vgl. Tabelle II).

Bei der Erörterung der Resultate der in den beiden vorstehenden Tabellen angegebenen Versuche wird sich eine Vermengung der beiden Organismen am besten vermeiden lassen, wenn der Gegenstand in folgende Hauptpunkte eingetheilt wird:

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05174-0296-7

a) Ernährung von Bact. fimbr.;
b) Ernährung von D. m.;
c) Einfluss des Wachsthums von Bact. fimbr. auf die Reaction des Mediums.

a) Ernährung von Bact. fimbr.

Der relative Nährwerth der verschiedenen geprüften Substanzen mag in folgender Weise kurz dargelegt werden:

erstklassige Quellen für C sowohl wie für N waren: Pepton und Leucin;

erstklassige Quellen für N allein waren: Legumin, Casein, NH_4NO_3, Nuclein, Asparagin und Harnsäure;

erstklassige Quellen für C allein waren: Traubenzucker, Levulose, Galactose, Maltose, Glycerin und Rohrzucker;

zweitklassige Quellen für N allein waren Ammoniak, Nitrat, Hippursäure und Urethan;

zweitklassige Quellen für C allein waren: citronsaures Salz und apfelsaures Salz.

Die anderen geprüften Substanzen hatten wenig Nährwerth.

Von den Amidosubstanzen ergab sich: Leucin als Quelle für C sowohl als für N; Asparagin allein für N und Glycocoll für keines von beiden. Gründe hierfür lassen sich nicht angeben; doch mag der Werth von Leucin als C-Quelle in einer gewissen Verbindung stehen mit seinem reichlichen C-Gehalt: er ist das C-haltigste der gewöhnlichen Amide und Amidosäuren. Kein Grund lässt sich auch dafür angeben, weshalb die beiden höheren Substanzen gute N-Quellen sind, während der von Glycocoll unbrauchbar ist.

Die Lösungen der Eiweisssubstanzen: Fibrin, Syntonin, Legumin, Casein und Nuclein enthielten andauernd einen Ueberschuss der festen Masse. Diese Körper gelten für chemisch unlöslich. Die nöthige Auflösung — damit D. m. sich von ihnen ernähren kann — könnte durch Hydrolyse während der Sterilisation zu stande gebracht werden (Klebs 5, Theil II), durch Fermente, oder durch Bildung löslicher Salze mit den vorhandenen Basen, z. B. mit Kalium, das Kalium albuminatum bildet. Für Bact. fimbr. sind Fibrin und Syntonin weit werthlosere N-Quellen als die anderen drei Substanzen.

Eine erstklassige Quelle für C allein ist, ausser den üblichen Mono- und Disacchariden, nur Glycerin, das sich auch als ein ausgezeichneter Nährstoff für viele andere Bacterien, besonders Anaërobionten, erwiesen hat. Unbrauchbar waren die stärkeren Fettsäuren,

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05174-0297-3

z. B. Stearinsäure, und obgleich Glycerin allein leicht verwendbar ist, sind für Bact. fimbr. Oele, z. B. Olivenöl, nicht benutzbar. Die Polysacchariden hatten im Gegensatz zu den beiden anderen Gruppen von Kohlehydraten sehr geringen Werth. Ein weiteres Ergebniss ist, dass, obgleich Legumin, Casein und Nuclein erstklassige N-Quellen sind, ihr C unverwendbar ist. In dieser Hinsicht gleichen sowohl Bact. fimbr. wie D. m. den *Mucoraceen,* die ihren C lieber von Kohlehydraten nehmen, und stehen im Gegensatz zu den *Saprolegniaceen* (Klebs 5, Theil II), die den C von Proteiden dem von Kohlehydraten vorziehen.

b) Ernährung von D. m.

Wenn man die Stärke des Wachsthums dieser beiden Organismen vergleicht, ist man erstaunt, dass mit ganz wenigen Ausnahmen das Wachsthum von D. m. dem des Bakteriums direct proportional ist. Daher gelten die oben über die Ernährung von Bact. fimbr. gemachten Bemerkungen im Allgemeinen eben so gut für die von D. m., wenn es in Verbindung mit jenem Bacterium wächst. In einigen wenigen Fällen zeigte sich, dass, obgleich Bact. fimbr. wuchs, D. m. nicht wuchs. Dagegen wurde kein Medium gefunden, in dem D. m. wuchs, Bact. fimbr. aber nicht.

c) Einfluss des Wachsthums von Bact. fimbr. auf die Reaction des Mediums.

Besondere Aufmerksamkeit wurde der aus dem Wachsthum des Bacteriums resultirenden Reaction gewidmet, da Nadson (4) der kürzlich D. m. mit *Bacillus fluorescens liquaefaciens* (Bac. fluor. liq.) isolirt hat, der Ansicht ist, dass dieses Bacterium die Reaction alkalisch macht und dadurch das Wachsthum von D. m. begünstigt. Da D. m. ein schwach alkalisches Medium bevorzugt, und Bact. fimbr. aus den meisten N-haltigen organischen Substanzen Alkalescenz zu stande bringt, ist es ganz richtig, dass auf gewissen Medien Bact. fimbr., indem es die Optimalreaktion hervorbringt, aus eben diesem Grunde das Wachsthum von D. m. begünstigt. Wäre aber dies der einzige aus Bact. fimbr. entspringende Vortheil, so könnte man erwarten, dass sich auf solchen schwach alkalisch gemachten Nährböden D. m. allein züchten liesse. Obgleich entsprechende Versuche mit verschiedenen Nährstoffen angestellt wurden, erschien jedoch D. m. nie allein, und es ist zweifellos, dass auf jeden Fall Bact. fimbr., wenn nicht Bac. fluor. liq., in einer weit engeren Verbindung mit D. m. steht, als dass es nur die verlangte Reaction hervorruft. Ferner ist es für die Entwickelung von D. m. keineswegs unbedingt nöthig, dass das Medium schwach alkalisch ist;

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05174-0298-9

denn es wächst gut in Medien, deren Reaction von schwachem Säuregehalt bis zu ausgesprochener Alkalescenz variirt. Wie man aus Tabelle I und II ersehen kann, entwickelt sich D. m. ausnahmsweise gut in Medien, in denen Bact. fimbr. sehr verschiedene Reactionen hervorgebracht hat.

Obgleich einige Bacterien als Säure- und andere als Alkalescenzbildner bekannt sind, so weiss man doch von Bacterien wie von Pilzen, dass die in irgend einem Medium hervorgebrachte Reaction in grossem Maasse von dessen chemischer Zusammensetzung abhängt und dass derselbe Organismus in verschiedenen Medien verschiedene Reactionen hervorbringt, wobei die allgemeine Regel gilt, dass Säuregehalt aus den Kohlehydraten und Alkalescenz aus den N-haltigen Substanzen hervorgebracht wird. Es wird sich zeigen, dass Bact. fimbr. von dieser Regel keine Ausnahme macht. Bei den Versuchen der Tabelle II, wo verschiedene C-Verbindungen der Reihe nach mit NH_4NO_3 gemischt wurden, wurde Säure aus den Mono- und Di-sacchariden und Glycerin hervorgebracht, ausgesprochene Alkalescenz jedoch aus citron- und apfelsauren Salzen. Die Produktion alkalischer reagirender Stoffe aus den organischen Säuren ist, glaube ich, früher nicht beobachtet worden. Bact. fimbr. benutzt den organischen Theil dieser Salze als C-Quelle, und dadurch ermöglicht es wohl die Alkalescenz der Base in den Vordergrund treten zu lassen. Eine genauere Erklärung für die Produktion alkalischer reagirender Stoffe aus den organischen Säuren lässt sich nicht angeben.[1])

In Pepton allein verursachte das Wachsthum von Bact. fimbr. eine alkalische Reaction, aber in 0,1 % Pepton + 0,2 % Rohrzucker war Säuregehalt das Ergebniss. Die aus einem Wachsthum in einer Mischung dieser beiden Substanzen resultirende Reaction würde zweifellos von dem Verhältniss der Mischung abhängen. Bei den hier angewendeten Mengen ist der aus Rohrzucker hervorgebrachte Säuregehalt stärker gewesen als die aus dem Pepton resultirende Alkalescenz. Andererseits bewirkte ein Wachsthum in einer Mischung von 0,1 % Asparagin + 0,2 % Rohrzucker, d. h. einer in den gleichen Verhältnissen hergestellten Mischung, wie die aus Pepton und Rohrzucker war, ausgesprochene Alkalescenz. Ein Wachsthum in Leucin + Rohrzucker, ja sogar in Leucin allein, brachte Säuregehalt hervor.

1) Man fragt sich, ob die bei einer Erforschung der für Pilze und Bacterien brauchbaren C- und N-haltigen Radicalen gewonnene Belehrung nicht dazu verwendet werden könnte, die Formen zu bestimmen, in denen C und N in complicirten organischen Substanzen existiren, z. B. in Albuminoiden, deren genaue chemische Zusammensetzung unbekannt ist.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05174-0299-7

Wir sehen also, dass D. m. ausgezeichnet mit Bact. fimbr. wachsen kann, sogar wenn durch die Wirkung des mitwachsenden Bacteriums die Reaction einer ursprünglich neutralen Lösung sauer geworden ist.

Es ist früher gezeigt, dass auf Maismedien Bact. fimbr. für das Wachsthum von D. m. nöthig ist; nun erhebt sich die Frage, ob das Bacterium auf allen Medien nöthig ist. In der Absicht, diesen Punkt zu prüfen und die aus den flüssigen Culturen über den relativen Nährwerth verschiedener N-Quellen erhaltenen Resultate zu bestätigen, wurde eine Reihe von Agar mit 1 % Traubenzucker, 0,2 % anorganischen Salzen (K_3PO_4 und $MgSO_4$) und $^1/_2$ % von jeder der N-haltigen Substanzen von Tabelle I der Reihe nach vorbereitet. Da auf reinem Agar (in destillirtem Wasser aufgelöst) eine geringe Sporangienmenge hervorgebracht wird, wurde ein Versuch gemacht, den Agar mit Säure (HCl) und Alkali (NaOH) zu extrahiren, um so die zur Nahrung für D. m. dienenden Substanzen völlig zu entfernen. Als D. m. auf diesem ausgelaugten Agar gesät wurde, keimten die Sporen nicht; nachdem aber K_3PO_4 zugesetzt war, trat nicht nur ein Keimen ein, sondern es wurden sogar Sporangien produzirt. Später wurde die Extraction, da kein materieller Vortheil aus ihr entsprang, nicht weiter angewendet. Die Medien wurden vor dem Gebrauch alle neutralisirt. Das Bacterium und D. m. wurden auf die erstarrte Agar gesät, entweder in der oben beschriebenen Art, oder indem man mit sterilisirter Nadel ein Sporangium auf den Agar streifte, und von hier auf benachbarten Theilen säte. Um D. m. eine Gelegenheit zu geben, allein zu wachsen, wurden die Sporen sehr dünn gesät.

Tabelle III.

	Wachsthum des D. m.	Wachsthum d. Bact. fimbr.
Kalium nitricum	III	II
Ammonium sulphuricum	II	I—II
Asparagin	0	III
Leucin	III	III
Glycocoll	0	0
Pepton (0,2 %)	III	III
Fibrin	I—II	I
Syntonin	I—II	I—II
Legumin	II—III	II—III
Casein	II—III	II—III
Nuclein	II—III	II—III
Harnsäure	III	II—III
Hippursaures Natron	I—II	I—II
Harnstoff	0	0
Urethan	I—II	I—II
Acetamid	0—I	I
Kreotin	I	I—II
Trimethlamin	II	II

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05174-0300-3

Die Versuche bestätigen vor allen Dingen durchaus die mit flüssigem Nährmaterial angestellten. Bact. fimbr. wuchs überall mit fast genau derselben Intensität wie in den entsprechenden Flüssigkeiten; andererseits aber wuchs D. m., während es im Allgemeinen direct proportional dem Bacterium wuchs, auf der Oberfläche des Agar um einen oder zwei Grad besser als in dem entsprechenden flüssigen Medium. Jedenfalls wuchs D. m. in Colonien des Bacteriums und erschien nie allein. Zu den 17 stickstoffhaltigen Substanzen, die in Lösungen probirt waren (vgl. Tabelle I), wurde noch ein Amin (Trimethylamin) geprüft, und es erwies sich als mittelmässige N-Quelle (II) für Bact. fimbr., wie für D. m.

Die Erscheinung der Colonien von Bact. fimbr. blieb auf gleichem Medium stets dieselbe, variirte aber auf verschiedenen Medien ganz bedeutend, nicht nur in Grösse und Form, sondern auch in Trübigkeit und Farbe. Auf Trimethylamin- und $[NH_4]_2SO_4$-Agar waren die Colonien kreisförmig, flach und sehr dicht — wie undurchsichtige weisse Scheiben; auf Fibrin und Syntonin gross und völlig durchsichtig, sogar wenn sie beträchtlich dick waren; auf KNO_3 gross und halb undurchsichtig; auf Pepton unregelmässig gestaltet, mit einer starken Neigung sich auszudehnen und mit bräunlich gelber Färbung. Eine Untersuchung der durchsichtigen Colonien auf Fibrin und der sehr undurchsichtigen auf Trimethylamin ergab, dass die erstere vornehmlich aus Schleim mit verhältnissmässig wenig Bacterien bestand, während die letztere eine dichte Bacterienmasse mit ausserordentlich wenig Schleim war.

Wir sind jetzt in der Lage, zu verstehen, von welchen Bestandtheilen von Maismedien und Pferdemist Bact. fimbr. und D. m. sich nähren. In aus Mais hergestellten Ernährungsmedien konnten die Eiweisssubstanzen und wahrscheinlich auch Spuren von amidähnlichen Substanzen als N-Quelle gelten, und Substanzen von dextrinähnlicher Natur, durch Hydrolyse aus Stärke gebildet, konnten C liefern. Ferner wächst der Nährwerth dieses complicirten Mediums wohl, weil es sowohl C wie N in einer ganzen Reihe verschiedener Formen der Zusammensetzung darbietet. Der wässerige Maisextract enthält weder Di- noch Monosaccharide, und obgleich etwas lösliche Stärke vorhanden ist, zeigen die Versuche von Tabelle II, dass weder Bact. fimbr. noch D. m. im Stande ist, davon Gebrauch zu machen. In Pferdemist gewähren Spuren von Harn- und Hippur-N wahrscheinlich die nöthige Menge dieses Elementes; die C-Quelle bieten vielleicht Pentosen.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05174-0301-9

Die in Tabelle I, II und III angegebenen Züchtungsversuche zeigen, dass D. m. (mit Bact. fimbr.) auf künstlichen Medien von sicher bekannter chemischer Zusammensetzung gerade so gut gezüchtet werden kann, wie es in der Natur wächst; in der That entwickelt sich D. m., wenn es mit Bact. fimbr. gesät wird, in Lösungen oder Agar mit NH_4NO_3, Legumin, Casein, Nuclein oder Leucin als N-Quelle und einer der Glucosen oder Disacchariden (vorzüglich Maltose) als C-Quelle bedeutend intensiver als auf Pferdemist.

2. Abschnitt.

Wir wollen jetzt die Beziehungen der beiden Organismen eingehender erörtern. Zunächst: stehen sie im Verhältniss einer Symbiose? d. h. ist das Zusammenwirken der beiden verbundenen Organismen zu ihrem beiderseitigen Vortheil? Die Vereinigung ist offenbar zum Vortheil von D. m. Die Frage ist, ob Bact. fimbr. auch Nutzen aus dem Vorhandensein von D. m. zieht? d. h. kann das Bacterium auf irgend einem Medium, wo es allein nicht gedeihen kann, in Verbindung mit D. m. wachsen? oder wächst es in Verbindung mit D. m. besser als allein? Diesem Punkt wurde besondere Aufmerksamkeit gewidmet, da Nadson behauptet, er habe den deutlichen Beweis einer symbiotischen Beziehung zwischen D. m. und Bac. fluor. liq. erhalten. Beim Vergleich der beiden parallelen Fälle von a) dem Wachsthum von Bact. fimbr. allein und b) dem von D. m. in Verbindung mit Bact. fimbr. fand in mehreren Medien (z. B. 0,2 % Rohrzucker + 0,1 % Acetamid + anorganische Salze) ein sehr geringes Wachsthum des Bacteriums in den Erlenmeyer'schen Flaschen statt, die mit Bact. fimbr. allein geimpft waren; aber in Dosen, die sowohl mit Bact. fimbr. als mit D. m. geimpft waren, wurden Sporangien producirt und das Bacterium wuchs dort gut. Dies legt die Vermuthung nahe, dass das Wachsthum des Bacteriums aus dem von D. m. Vortheil gezogen hat, d. h. dass eine echte Symbiose existirt. Alle Versuche, dasselbe zu wiederholen, scheiterten jedoch und es liess sich keine Symbiose nachweisen. Das gute Wachsthum des Bacteriums in den Dosen war jedenfalls auf Bacterien, die als Verunreinigung hineingekommen waren, oder auf eine andere zufällige Ursache zurückzuführen. In den Erlenmeyer'schen mit Watte verschlossenen Flaschen liessen sich die Culturen natürlich leicht rein erhalten; die Dosen dagegen müssen, wenn sie zuverlässig sein sollen, einen übergreifenden, gut schliessenden, geschliffenen Deckel haben und in einer zugfreien Atmosphäre aufgestellt sein. Die grosse

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05174-0302-5

Schwierigkeit, Dosen-Culturen rein zu erhalten, genügt völlig zur Erklärung der Fälle von anscheinender Symbiose. Abgesehen von diesen zufälligen Erscheinungen sah man weder in den Lösungen noch auf Agar Bact. fimbr. besser wachsen, wenn es mit D. m. verbunden war. Ferner fand sich kein Medium, auf dem Bact. fimbr. wuchs, wenn es mit D. m. zusammen gesät war, auf dem aber kein Wachsthum eintrat, wenn das Bacterium allein gesät war. Worin auch die Beziehung mit Bac. fluor. liq. bestehen mag, Bact. fimbr. zeigte nirgends, dass es aus D. m. irgendwie Nutzen zog, und es liess sich nicht beweisen, dass eine echte Symbiose zwischen ihnen bestand.

Es ist klar, dass D. m. allein all die aus dem Zusammenwirken der beiden verbundenen Organismen erwachsenden Vortheile geniesst. Worin diese Vortheile bestehen, wollen wir festzustellen versuchen. Zunächst muss ermittelt werden, ob D. m. von Stoffwechselprodukten des Bact. fimbr. sich ernährt. Um dies zu prüfen, wurde Bact. fimbr. in eine Lösung von NH_4NO_3, Traubenzucker und anorganischen Salzen gesät: eine Mischung, in der D. m. mit Bact. fimbr. ausgezeichnet wächst. Nach Ablauf eines Monats wurde die Lösung neutralisirt und, um die Bacterien zu entfernen, durch einen Kinijoun-Filter filtrirt. Wenn D. m. sich von diesem nährte, müsste es darin gedeihen. Thatsächlich wuchsen aber weder D. m. noch Bact. fimbr. darin, woraus sich ergibt, dass D. m. weder von den Stoffwechselprodukten des Bact. fimbr. noch von den ursprünglichen chemischen Substanzen des Mediums sich nährt. Zur Bestätigung dafür wurden folgende Versuche gemacht: Bact. fimbr. wurde gezüchtet in Lösungen von 0,2 % Rohrzucker, 0,1 % anorganischen Salzen (K_3PO_4 und $MgSO_4$) und je 0,1 % von einer der folgenden N-haltigen Substanzen: KNO_3, $(NH_4)_2SO_4$, NH_4NO_3, Legumin, Casein, Leucin und Harnsäure. Aus Tabelle II ergibt sich, dass sowohl Bact. fimbr. als D. m. in diesen Mischungen gut wachsen. Nachdem Bact. fimbr. einen Monat lang gewachsen war, wurden die Lösungen neutralisirt, sterilisirt, und dann wurde dasselbe Bacterium, diesmal zusammen mit D. m., hineingesät. Aber D. m. erschien entweder überhaupt nicht, oder war, wo es sich zeigte, nur sehr spärlich entwickelt, und das Bacterium wuchs, wie zu erwarten stand, überhaupt nicht (pag. 290).

Bact. fimbr. ist nöthig für die Entwickelung von D. m.; doch D. m. frisst weder das Bacterium, noch nährt es sich von seinem Produkte. Diese beiden Thatsachen scheinen sich zu widersprechen und so fragen wir: Worin kann dann die vortheilhafte Wirkung von Bact. fimbr. bestehen?

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05174-0303-1

Bei den Culturen auf Nähragar, die N in verschiedenen Formen enthielten, und deren Ergebnisse in Tabelle III angegeben sind, zeigte es sich auf vielen Medien, besonders auf dem KNO_3-Agar, dass die Bacteriencolonien, in denen D. m. wuchs, völlig durchsichtig waren, dass aber die auf derselben Platte befindlichen, in welchen D. m. nicht vorhanden war, sehr undurchsichtig waren. Zuerst glaubte ich, diese beiden Classen von Colonien müssten verschiedenen Bacterienarten angehören; doch eine weitere Beobachtung zeigte, dass ursprünglich sehr undurchsichtige Colonien dadurch, dass D. m. in ihnen wuchs, völlig durchsichtig gemacht wurden (s. Fig. 2).

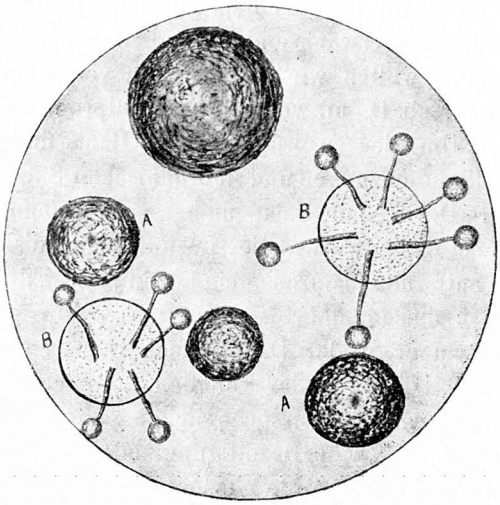


Fig. 2. KNO_3-Agarplatte mit Bact. fimbr.-Colonien. *A* Colonien ohne D. m. — *B* Klargewordene Colonien mit D. m.

Dies Klarwerden der Colonien unter der Einwirkung von D. m. war mehr oder weniger auf allen festen Medien bemerkbar, besonders aber auf denen, die salpetersaures Salz, Leucin $(NH_4)_2SO_4$ und Trimethylamin [vgl. Tabelle III]), enthielten. Auf diesen Medien wurden die Colonien vollkommen durchsichtig, während sie es auf anderen, z. B. Peptonagar, nur teilweise wurden. Darauf wurde ein Vergleich zwischen den beiden Arten von Colonien angestellt. Der Schleim liess sich schnell und gründlich mit Methylenblau färben. Von jeder Colonieart wurde annähernd die gleiche Masse auf einen Spatel gebracht und mit Methylenblau gefärbt; in der Schleimmenge war kein Unterschied zu bemerken.

Die Zahl der Bacterien einer undurchsichtigen und einer klaren Colonie wurde dann nach der bei Wasseranalyse angewendeten Methode berechnet. Bei der ersten Berechnung wurden Colonien von 4 mm Durchmesser gewählt. Die durchsichtige Colonie zeigte 30 grosse Sporangien. Die Resultate stellten sich so heraus: die Colonie, in der D. m. nicht vorhanden war, hatte etwa 836 Millionen Bacterien; während die, in der D. gewachsen war, nur gegen 19 Millionen hatte; d. h. fast 98 % der Bacterien waren von D. m. getödtet worden. Diese Berechnung wurde

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05174-0304-7

mit Colonien von einer anderen Platte wiederholt, und wieder zeigten die Resultate einen grossen Unterschied — in diesem zweiten Falle waren 83 % der Bacterien verschwunden. Für die zweite Berechnung wurden etwas grössere Colonien (5 mm Durchmesser) gewählt. Die durchsichtige Colonie hatte nur 15 kleine Sporangien; daher steht hier kein so bedeutender Unterschied in der Bacterienzahl zu erwarten, als wo 30 Sporangien auf einer Colonie von 4 mm Durchmesser wuchsen. Diese Erscheinungen zeigen, dass D. m. wichtige Veränderungen in den Bacteriencolonien, in denen es wächst, verursacht. Ich versuchte diese Veränderungen durch Färben zu bestimmen. Es fand sich, dass Gentianaviolett der für diesen Zweck geeignetste Farbstoff war. Die Colonien, in denen D. m. gewachsen war, bestanden, wie sich zeigte, fast ganz und gar aus Bacterienresten; die wenigen unverletzt gebliebenen Bacterien waren stark angeschwollen und hatten verschiedene abnorme Gestalten („Involutionsformen"). Die Bacterien der Controlcolonien, d. h. Colonie ohne D. m., waren normal gestaltet (kurze Stäbchenform). Wir sehen also, dass das Wachsthum von D. m. in Colonien von Bact. fimbr. eine Zerstörung der Bacterien mit sich bringt. Zur besseren Beobachtung dieser Zerstörung wurde D. m. mit einem grösseren Bacterium, *Bac. megatherium* isolirt.[1]) Das Wachsthum von D. m. in Colonien von *Bac. megatherium* war, wie in denen von Bact. fimbr. von einem deutlichen Klarwerden der Colonien begleitet. Bei der Färbung zeigte es sich, dass die Controlcolonien aus einheitlich gestalteten Stäbchenbacterien bestanden, die gelegentlich zu Fäden von 2—5 Bacterien vereinigt waren. Die Bacterien aus den Colonien, in denen D. m. gewachsen war, bestanden aus:

1. Involutionsformen. Dieses sind ungewöhnlich grosse, abnorm gestaltete Formen; sie sind oft zu einem solchen Umfang angeschwollen, dass sie kaum von den D.-Sporen zu unterscheiden sind. Ihre Bildung resultirt stets daraus, dass D. m. in der Colonie wächst. Dass sie nicht das Ergebniss eines ungeeigneten Ernährungsmediums sind, wird durch die Controlculturen bewiesen, die auf demselben Medium gewachsen und ebenso alt waren, ohne Involutionsformen zu bilden. Viele der Involutionsformen zerfallen in Stücke, allmählich absterbend (s. Fig. 3).

---

1) Bact. fimbr. ist sehr klein — die vegetative Zelle ist kleiner als die Sporen von *Bac. megatherium*.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05174-0305-2

2. Reste der Bacterienzellen, die das Ergebniss des Verfalls der Involutionsformen sind. Diese Ueberbleibsel bedecken den Haupttheil des Gesichtsfeldes.

3. Normalformen von *Bac. megatherium*. Davon sind aber nie viele vorhanden; gelegentlich fehlen sie ganz.

Aehnlich wurde D. m. mit *Bac. subtilis* und *Bac. fluor. liq.* isolirt, und in beiden Fällen verursachte D. m. das Klarwerden der Colonien: die Färbung ergab, dass es die Produktion von Involutions-

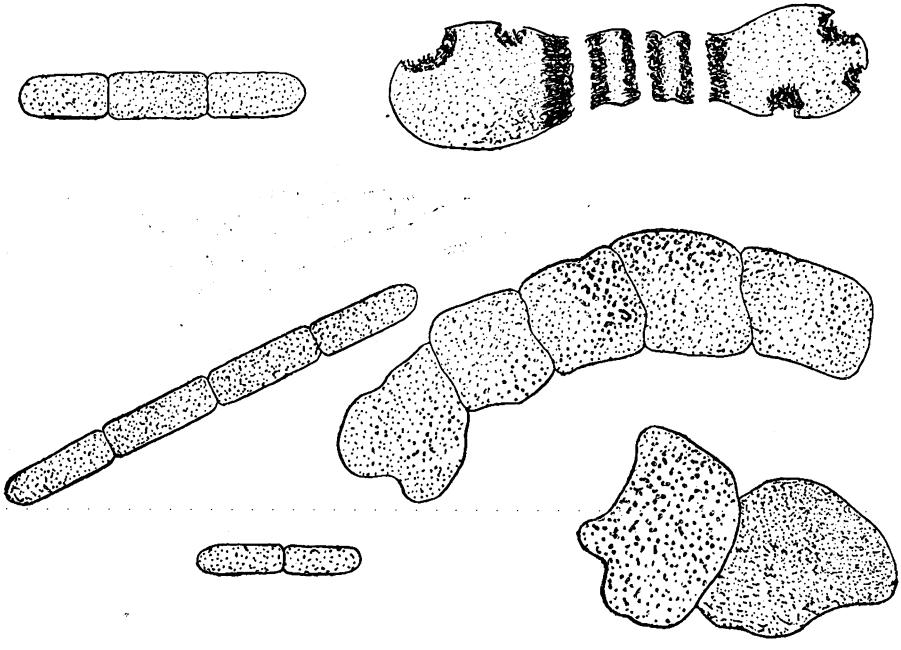


Fig. 3. Links normaler Bact. megatherium. Rechts bei derselben Vergrösserung, Involutionsformen desselben Bacillus aus einer Colonie mit D. m.; einige davon sind im Zerfallen begriffen.

formen und den Verfall der Bacterien veranlasste. *Bac. subtilis* wurde seiner Grösse wegen für diese Versuche gewählt. Mit *Bac. fluor. liq.* wurde D. m. andererseits isolirt, weil Nadson, der die beiden kürzlich zusammen gezüchtet hatte, fand, dass zwischen ihnen eine regelrechte Symbiose bestand. Nach meinen Versuchen behandelte D. m. jedoch *Bac. fluor. liq.* genau so, wie es Bact. fimbr., *Bac. megatherium* oder *Bac. subtilis* behandelt hatte, d. h. es zerstörte die Bacterien und brachte so das Klarwerden der Colonien zu stande. Ferner brachten diejenigen Colonien von *Bac. fluor. liq.*, in denen

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05174-0306-8

D. m. wuchs, keinen der charakteristischen Farbstoffe hervor, denen der Bacillus seinen Namen verdankt, während die Controlcolonien, in denen D. m. nicht vorhanden war, es thaten. D. m. schwächt also den *Bac. fluor. liq.*, anstatt ihm Nutzen zu bringen, so sehr, dass er unfähig wird die Farbstoffe hervorzubringen. Die Involutionsformen sind natürlich die geschwächten. Einen anderen Beweis für die Schwächung von Bacterien durch D. m. erbrachte seine Züchtung mit *Bac. megatherium*. Hier zeigte es sich, dass, wenn D. m. zur gleichen Zeit wie *Bac. megatherium* gesät wurde, der Bacillus — die Involutionsformen — unfähig war, Sporen zu bilden.

Ich lasse jetzt eine Beschreibung des Verfahrens folgen, nach dem D. m. mit jeder der Bacterienarten isolirt wurde. Die Originalcultur von D. m. mit Bact. fimbr. wurde dadurch erhalten, dass ein Sporangium in Wasser geschüttelt, dieses dann verdünnt und auf das Ernährungsmedium gegossen wurde. Dies Verfahren gründete sich auf die Voraussetzung, dass ein einzelnes Bacterium und eine einzelne D.-Spore sich auf irgend einem Theile einer Platte zusammenlegen, wo keine anderen Bacterien hingelangt sind. Durch diese Methode wurde endlich eine Reincultur von D. m. und Bact. fimbr. hergestellt; die Methode ist aber sehr umständlich. Um D. m. mit *Bac. megatherium* zu isolieren, wurde die folgende neue Methode, die durch die Entdeckung, dass D. m. Bact. fimbr. vernichtet, angeregt wurde, angewandt: *Bac. megatherium* wurde auf verschiedene Nähragar gesät und wenn die Colonien einige Tage alt waren, wurden sie mit D. m. von Exemplaren, die in Colonien mit Bact. fimbr. gewachsen waren, geimpft. Dabei wurde ein einzelnes Sporangium in jede Colonie von *Bac. megatherium* gebracht. Im Verlauf von 4—5 Tagen trug D. m. Frucht und wurde wieder in Colonien von *Bac. megatherium* geimpft, wo es wieder Frucht trug, um zum dritten Male auf *Bac. megatherium* geimpft zu werden. Nachdem D. m. in dieser Art durch drei auf einander folgende Generationen auf *Bac. megatherium* gewachsen war, zeigte es sich, dass es völlig frei war von Bact. fimbr. und dass wir eine Reincultur von D. m. + *Bac. megatherium* hatten. In gleicher Weise wurden Reinculturen von D. m. + *Bac. subtilis* und D. m. + *Bac. fluor. liq.* erzielt. Unter Benutzung dieser Methode wurden auf mehreren Nährmedien Versuche zur Isolirung von D. m. mit *Bac. anthracis* und mit einer *rosa Hefe* gemacht. Die Bemühungen hatten jedoch keinen Erfolg, denn D. m. wuchs nicht in Colonien dieser beiden Organismen.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05174-0307-4

Eine Methode, D. m. zu säen, besteht darin, ein Sporangium abzustreifen und die Sporen vermittels einer Platinnadel über den Agar zu vertheilen. Wird D. m. so gesät, dann entwickeln sich zahlreiche Bacteriencolonien und bestätigen so die bereits von Nadson gemachte Beobachtung, dass Bacterien in den Sporangien von D. m. vorkommen. Bisweilen jedoch kam es vor, dass Platten, auf die Sporangien gesät waren, unfruchtbar blieben. Da die benutzten Ernährungsmedien für D. m. geeignet waren, so konnte sein Nichtwachsen nur auf das Fehlen von Bacterien zurückzuführen sein. Dies wurde dadurch bewiesen, dass auf eine Hälfte der Platte Bacterien gesät wurden, wo sich dann zeigte, dass D. m. in den Bacteriencolonien wuchs, während die andere Hälfte der Platte unfruchtbar blieb. Diese Versuche bestätigen diejenigen, die am Anfang dieses Capitels beschrieben sind und zeigen, dass Bacterien für das Wachsthum von D. m. nöthig sind.

Die Abhängigkeit der D.-Amöben von dem Bacterium lässt zunächst vermuthen, dass die Amöben Bacterien fressen. Dies ist trotz wiederholter Versuche bei D. m. nie beobachtet: man sah weder, dass die Amöben Bacterien verschlangen, noch fand man Bacterien in den Amöben. Ferner hat eine Färbung der Amöben nie gezeigt, dass sie Bacterien enthielten, denn obgleich die Amöben oft Körperchen von verschiedener Grösse enthalten, zeigen die folgenden Proben, dass dies keine Bacterien sind: 1. Sie werden durch Alkohol aufgelöst; 2. sie lassen sich mit Methylenblau oder Methylengrün färben, während Bact. fimbr. aus einer Colonie, von der die Amöben genommen waren, dafür unempfindlich ist. Ferner fand sich umgekehrt ein Farbstoff, Gentianaviolett, der Bact. fimbr., aber nicht die Körperchen färbt. Die anderen Forscher, die mit D. m. gearbeitet haben, nämlich Brefeld, Grimm und Nadson, behaupten einstimmig, dass D. m. nicht Bacterien verschlingt, sondern sich endosmotisch nährt. Grimm, dessen Forschung sich weitläufig mit dem Bau und dem Kern der Amöben beschäftigt, hatte eine hervorragende Gelegenheit dies zu beobachten, wenn er es färbte, um den Bau des Kernes zu prüfen. Er hat feste Reste in den Amöben gesehen, hält aber solche Funde für seltene Ausnahmen, da die Amöben sich durch Endosmose nähren. Bei anderen *Myxomyceten*, z. B. *Didymum*, wie zuerst von Lister boobachtet worden ist, ist die thatsächliche Einführung von Bacterien leicht zu beobachten und man kann ferner die eingeführten Bacterien in der Vacuole der Amöbe herumtanzen sehen. Bei der colossalen Anzahl der von D. m. zerstörten Bacterien müsste man, wenn sie in den Amöben verdaut

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05174-0308-0

würden, unbedingt im Stande sein, etwas von dem Process wahrzunehmen.

Wir haben gezeigt, dass D. m. nicht von den Stoffwechselprodukten von Bacterien (Bact. fimbr.) leben kann und ferner, dass es keine Bacterien auffrisst. Andererseits steht dem aber die Thatsache gegenüber, dass Bacterien für seine Entwickelung nöthig sind. Die Färbung von Bacterien aus Colonien, in denen D. m. wächst, ergibt, dass die Bacterien allmählich von D. m. zerstört werden, d. h. dass das Wachsthum und die Ernährung von D. m. begleitet werden vom Verfall der Bacterien. Die Frage ist nun die: Wie kann D. m. sich von Bacterien nähren, ohne sie in seinem Körper aufzunehmen und sie dort zu verdauen? Offenbar, indem er sie ausserhalb seines Körpers verdaut. Es müsste zu diesem Zweck ein Enzym von D. m. abgesondert werden. Die aus der Bacterienverdauung durch das Enzym resultirenden Produkte könnten dann endosmotisch von D. m. aufgesogen werden. Die Involutionsformen sind ein wichtiger Beweis für das Vorhandensein irgendwelcher Substanz, die nachtheilig auf die Bacterien wirkt. Ferner müssen wir die bei der Färbung sich findenden Bacterienreste als unverdaute Ueberbleibsel auffassen. Die Existenz von Enzymen in dem Körper von *Myxomyceten* ist längst bekannt; so bewies Krukenberger (18) das Vorhandensein eines peptonisirenden Enzyms in *Fuligo septicum*. Und das ist der Weg, auf dem Amöben die verschlungenen Bacterien verdauen. Nie jedoch werden Bacterien von Amöben völlig gelöst, denn wenn sie einige Zeit in den Amöben oder in dem Plasmodium geblieben sind und ihr Nährwerth extrahirt ist, wird der unverdaute Rest ausgeworfen. Diese ausgeworfenen Reste entsprechen den Bacterienüberbleibseln, die in Colonien mit D. m. gefunden werden.

Dann wandte ich mich der Frage zu, ob lebende Bacterien nöthig sind oder ob D. m. nicht auch todte Bacterien verwerthen kann. *Bac. megatherium* wurde auf Agar gesät und musste 2—3 Tage wachsen. Dann wurden die Bacterien getödtet, indem Aether, Alkohol oder Chloroform über die Platte gegossen wurde und einige Stunden darauf stehen blieb; darauf wurde der Ueberschuss fortgegossen und die letzten Spuren des Giftes entfernt, indem die Platte einer Temperatur von etwa 30° C. ausgesetzt wurde. Um für die Entwickelung von D. m. Feuchtigkeit zu bekommen, wurde den Platten sterilisirtes Wasser zugesetzt. Zur Vergewisserung, dass die Bacterien todt waren, wurden in jedem Falle Züchtungsversuche gemacht. Die Colonien wurden dann mit D. m. geimpft und das Er-

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05174-0309-8

gebniss war, dass D. m. auf der Chloroform- in neun und auf der Alkoholplatte ebenfalls in neun Tagen Frucht trug, aber auf der Aetherplatte überhaupt nicht wuchs. Aehnliche Experimente wurden mit Bact. fimbr. ausgeführt, wobei das Resultat war, dass D. m. auf der Chloroform- in 4—6 Tagen und auf der Alkoholplatte in neun Tagen Frucht trug, auf der Aetherplatte aber überhaupt nicht wuchs. In den Controlcolonien von lebenden Bacterien wurden in beiden Fällen (Bac. meg. und Bact. fimbr.) ca. vier Tage zur Fruchtbildung gebraucht. Hervorzuhebende Resultate sind hier: 1. D. m. kann sich von mit Chloroform getödtetem Bact. fimbr. ernähren. Dies schliessen wir aus der zur Fructification benöthigten Zeit, dem Vorhandensein von ungelösten Ueberbleibseln und dem theilweisen Klarwerden der Colonien. Der Nachweis der Fähigkeit von D. m., überhaupt getödtete Bacterien zu verdauen, ist sehr wichtig, weil dadurch die Möglichkeit der Bacterienvernichtung in zwei verschiedenen Stadien — Tödtung und dann erst Verdauung — gezeigt wird. Aus theoretischen Gründen ist dies übrigens sehr wahrscheinlich. 2. Andererseits kann sich D. m. weder von mit Chloroform getödtetem *Bac. megatherium* noch von mit Alkohol getödtetem Bact. fimbr. ernähren. Der Grund für diese Verschiedenheiten ist unklar; indessen bleibt zu beachten, dass die im Protoplasma verursachte Giftwirkung zweifellos von der specifischen Gift- bezw. Bacterienart abhängt. 3. Alkohol macht die durch ihn getödteten Bacterien unbrauchbar; sowie aber neue Bacterien Zeit zur Entwickelung gehabt haben, wächst D. m. (Es werden unvermeidlich lebende Bacterien zugleich mit D. m. gesät). Behandlung mit Aether dagegen verhindert in beiden Fällen die Entwickelung des D. m. vollständig, möglicherweise durch Verhinderung der Entwickelung der Bacterien, wie bei Gerinnung des Eiweisses.

So lange man festhält, dass Bacterien einen wesentlichen, ja sogar den hauptsächlichsten Theil der Nahrung von D. m. bilden, ist die Möglichkeit, dass D. m. chemische Substanzen und zwar andere als die aus der Verdauung von Bacterien resultirenden benutzt, nicht ausgeschlossen. Da wir keine von anderen Nährstoffen völlig freien Bacterien erhalten können, haben wir kein Mittel zur endgiltigen Beantwortung der Frage. Das reichliche Wachsthum von D. m. in maltose-, dextrin- und inulinhaltigen Lösungen (vgl. Tabelle II), in welch letzteren es die Entwickelungsintensität von Bact. fimbr. übertrifft, mag immerhin ein Hinweis darauf sein, dass D. m. sich theilweise entweder von der Maltose, dem Dextrin oder Inulin selbst, oder

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05174-0310-9

von anderen chemischen Substanzen, die Bact. fimbr. durch sein Wachsthum in diesen Lösungen hervorgebracht hat, genährt hat. Aber, wie gesagt, positive Schlüsse kann man nicht ziehen.

Die enorme Zahl von Bacterien, die D. m. verdaute, und seine geringen Anforderungen an die Ernährung erklären es, dass Bacterien den Hauptbestandtheil seiner Nahrung bilden und für ein mässiges, wenn nicht reichliches Wachsthum genügen. Hiernach fragen wir naturgemäss: Warum wächst D. m. nicht überall, wo Bacterien, wenigstens die vier besprochenen Arten, wachsen? Versuche ergaben, dass das Wachsthum von D. m. nicht allein von der besonderen Species des mit ihm zusammen gesäten Bacteriums abhängt, sondern auch von dem benutzten Ernährungsmedium.

1. Betreffend den Einfluss des Bacteriums: Auf einem 0,5 proc. KNO_3 + 1 proc. Traubenzucker enthaltenden Agar wuchs D. m. in Colonien von *Bac. subtilis* oder Bact. fimbr., aber nicht in Colonien von *Bac. megatherium* oder *Bac. fluor. liq.* Auf einem Fleischextract enthaltenden Agar wuchs D. m. in Colonien von *Bac. megatherium* oder Bact. fimbr., aber nicht in Colonien von *Bac. subtilis* oder *Bac. fluor. liq.*

2. Betreffend den Einfluss des Ernährungsmediums: Mit *Bac. subtilis* wuchs D. m. auf KNO_3-Agar, aber nicht auf Fleischextractagar.[1]) Mit *Bac. megatherium* wuchs D. m. auf weinsaurem Ammoniumagar, Fleischextractagar oder NH_4NO_3-Agar, aber nicht auf Asparaginagar oder KNO_3-Agar. Ferner wuchs, was die Culturen in flüssigen Medien angeht, D. m., obgleich es mit Bact. fimbr. in vielen Lösungen wuchs, nicht in denen, die Asparagin, Pepton (0,1 %), citron- oder apfelsaures Salz enthielten (vgl. Tabelle I und II). Die einzige Erklärung dafür, dass D. m. in diesen Fällen nicht wuchs, ist, dass die Bacterienprodukte eine schädliche Wirkung darauf ausübten und sein Wachsthum verhinderten. Die Produktion chemischer Veränderungen in einem Medium als Resultat des Wachsthumes von Bacterien ist wohlbekannt (vgl. Flügge 8); ferner erbringen solche Krankheiten wie Starrkrampf, Tuberkulose u. s. w. den Beweis für die schädliche Wirkung von Bacterienprodukten und wenn solche für höhere Thiere schädlich sind, so gibt es keinen Grund, weshalb andere

---

1) Für den gegenwärtigen Zweck ist es nicht nothwendig, die genaue Zusammensetzung der verschiedenen Agar im Einzelnen anzugeben, aber gewöhnlich enthielten sie 1 % Traubenzucker und 1—2 % einer N-haltigen Substanz.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05174-0311-5

nicht für niedrigere Organismen schädlich sein sollten. Die von Bact. fimbr. in den Lösungen, die Asparagin, citron- und apfelsaures Salz enthielten, hervorgerufene Reaction war stark alkalisch und zwar so stark, dass schon dies an sich, abgesehen von einer besonderen Wirkung der Bacterienprodukte, völlig zur Verhinderung des Wachsthumes von D. m. genügte. In anderen Lösungen, wie z. B. den 0,1 % Pepton enthaltenden (vgl. Tabelle I), blieb die Reaction deutlich in den Grenzen, in denen D. m. gedeihen kann, so dass hier die schädliche Wirksamkeit der Bacterienprodukte irgend einer besonderen Wirkung, abgesehen von der ihrer Reaction, zugeschrieben werden musste.

Aus einem Vergleich der Resultate der in Tabelle I und III enthaltenen Experimente kann man ersehen, dass D. m. ein wenig besser auf Agar wächst als in Flüssigkeiten gleicher Zusammensetzung, und weiter ist D. m. in einigen Fällen sogar da auf dem Agar gewachsen, wo es in dem entsprechenden flüssigen Medium nicht fortkommen konnte. Die Thatsache, dass D. m. stark aërobisch ist, trägt zweifellos theilweise dazu bei, dass es auf Agar in directer Berührung mit der Luft besser wächst als in Flüssigkeiten. Den zweiten Factor, der vielleicht von Einfluss ist, bilden von Bact. fimbr. gelieferte Stoffe. Diese Produkte, die für D. m. schädlich sein können, sind, wenn sie in einer Bacteriencolonie auf Agar entstehen, in ihrer Wirkung auf diese eine Colonie beschränkt, wohingegen sie sich in Flüssigkeiten infolge der Diffusion diese Stoffe allenthalben zur Geltung bringen können. Dass Bacterienprodukte auf Agar weniger nachtheilig wirken, wird durch die Thatsache bewiesen, dass, während die aus 0,1 % Pepton gebildeten die Entwickelung von D. m. in Flüssigkeiten völlig verhindern, es doch ausgezeichnet wächst auf Agar, der zwei Mal so viel Pepton enthält (vgl. Tabelle I und III). Wie festgestellt ist, wächst D. m., wenn es mit Bact. fimbr. gesät ist, ausgezeichnet in Maisextract; in Erbsenextract dagegen, der schon an sich viel nahrungshaltiger ist, kann D. m. nicht wachsen. Da wir hier das Wachsthum in zwei flüssigen Medien vergleichen, so stehen sie beide darin auf derselben Stufe, dass in ihnen D. m. O-Mangel leidet und wir können daraus schliessen, dass die aus dem ausgezeichneten Wachsthum von Bact. fimbr. in Erbsenextract resultirenden Stoffwechselprodukte die einzige Ursache für die Verhinderung des D.-Wachsthums sind. Ferner wächst D. m., obgleich es in Erbsenextract nicht gedeiht, auf dem damit gemischten Agar gut. Ein anderer Punkt, der in Betracht gezogen werden muss, ist, dass immer

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05174-0312-1

die Gefahr vorliegt, fremde Bacterien aus der Luft in die Culturen zu bekommen. Wenn solch ein Bacterium auf Agar gefallen ist, entwickelt es sich dort und bildet eine Colonie und die schädlichen Produkte, die sie hervorbringt, bleiben auf die unmittelbare Nachbarschaft der Colonie beschränkt. Sollte jedoch eine fremde Bacterienart zu einem flüssigen Medium, das geeignete Nahrung enthält, Zutritt bekommen, so vermehrt sie sich überaus schnell, breitet sich durch die ganze Flüssigkeit aus und ihre Produkte haben Gelegenheit, alle Amöben in dieser Flüssigkeit zu schädigen. Zur Bekräftigung dessen zeigte es sich in flüssigen Medien, die solche Substanzen wie Disacchariden, Glucosen, Amide u. s. w., die von der Mehrzahl der Bacterien leicht aufgenommen werden, enthielten, dass, während D. m. mit Bact. fimbr. allein gesät gut wächst, kein D. m. erscheint, wenn mehrere andere Bacterienarten zugleich mit hineingesät werden. In der That ist Maisextract das einzige gewöhnliche flüssige Medium, in dem D. m. mit einiger Sicherheit gezüchtet werden kann, wenn mehrere Bacterienarten mit ihm ausgesät sind, und er verdankt diese Eigenschaft wahrscheinlich dem Umstand, dass sein C und N beide in nur schwer zersetzbaren Formen vorliegen, die von der Mehrzahl der Bacterien nicht leicht benutzt werden können. Die Bacterienprodukte sind alsdann entweder unschädlich oder, wenn schädlich, sammeln sie sich nicht zu solcher Masse an, dass sie verderblich werden. Die Erfahrung hat gelehrt, dass D. m. sehr empfindlich gegen die durch das Wachsthum von Bacterien gebildeten Produkte ist und für die nackten Amöben ist das leicht verständlich. Nadson, der bei der Züchtung von D. m. in Flüssigkeiten auf grosse Schwierigkeiten stiess, erklärt, dass solche Medien für diesen Organismus nicht geeignet sind. Obgleich er eine beträchtliche Zahl von Versuchen anführt, die beweisen sollen, dass flüssige Medien für D. m. ungeeignet sind, ist seine Behauptung doch unhaltbar und auf Rechnung des Umstandes zu setzen, dass er kein flüssiges Medium gefunden hat, in dem D. m. mit *Bac. fluor. liq.* gut wuchs. Gründe für die Ungeeignetheit flüssiger Medien für D. m. gibt er nicht an und in seinen Beweisen unterlässt er es, Bacterienprodukte zu berücksichtigen. Er macht für das Misslingen seiner Versuche in flüssigen Nährböden mit Unrecht den Aggregatzustand der Lösungen verantwortlich. Wie früher dargelegt, hat seine Behauptung etwas Richtiges; aber wir haben gezeigt, dass auch in Flüssigkeiten D. m. reichlich sich entwickelt, wenn geeignete Nährstoffe darin gesät sind und geeignete Bacterien gleichzeitig mit ihm sich entwickeln.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05174-0313-6

II. Einfluss der Feuchtigkeit und des Sauerstoffs.

Alle Versuche, ausser den die Ernährung betreffenden, wurden, soweit das Gegentheil nicht ausdrücklich bemerkt ist, auf einem aus Maisextract mit Zusatz von 0,2 % K_3PO_4 bestehenden Agar ausgeführt.

In der Gelatinestichcultur wächst Bact. fimbr. auf der Oberfläche in directer Berührung mit der Luft und auch längs des Stichkanals. Dieser Beweis dafür, dass Bact. fimbr. ein facultativer Anaërobiont ist, wurde bestätigt durch eine Nährlösungscultur in Wasserstoffatmosphäre. Unter diesen Umständen wächst Bact. fimbr. ebenso gut, wie wenn ihm freier Sauerstoff zur Verfügung steht.

Um zu prüfen, ob D. m. ein facultativer Anaërobiont ist, wurde Maisagar mit einem Zusatz von etwa 3 % Rohrzucker benutzt.[1]) Durch den flüssig gemachten Agar wurde Wasserstoff geleitet, um etwa vorhandene Luft zu verdrängen. Dann liess ich den Agar erstarren und säte Bact. fimbr. und D. m. auf die feste Oberfläche. Nachdem die Gläser vermittelst eines hindurchgesandten Wasserstoffstromes luftfrei gemacht waren, wurden sie luftdicht geschlossen. Unter diesen Umständen wuchs Bact. fimbr., aber D. m. war selbst nach Ablauf eines Monats noch nicht erschienen. Als jedoch am Ende dieser Zeit die Luft Zutritt erhielt, trug D. m. in 3—4 Tagen reichlich Frucht. Daraus ersehen wir, dass D. m. ein obligatorischer Aërobiont ist. Nadson hat dies bereits gesagt; seine Methode (Gelatinestichcultur) ist aber nicht überzeugend, da D. m. in der Substanz fester Medien keine normale Frucht bildet: es hätte also, könnte es anaërobisch leben, keinen Stengel, sondern eine, nur aus einer Sporenkugel bestehende Frucht bilden können und diese hätte leicht übersehen werden können. Es muss betont werden, dass D. m., selbst wenn es mit einem Anaërobionten (Bact. fimbr.) verbunden ist, in einer O-freien Atmosphäre nicht leben kann.

Das Verlangen des D. m. nach freiem Sauerstoff erklärt zweifellos zum Theil sein ausgezeichnetes Wachsthum auf der Oberfläche geeigneter fester Medien (s. o.), sowie dass es in gewissen flüssigen Medien, z. B. in peptonhaltigen, mit viel grösserer Sicherheit in hängenden Tropfen als in Schalen gezüchtet werden kann und dass es für eine erfolgreiche Züchtung in grossen Mengen von Flüssigkeiten wesentlich ist, dass die Flüssigkeit eine geringe Tiefe und eine grosse, der Luft ausgesetzte Oberfläche hat.

1) Rohrzucker wurde dem Ernährungsmedium zugesetzt, da es erwiesen ist, dass viele Organismen bloss dann anaërobisch leben können, wenn ihnen Mono- oder Disaccharide angeboten werden.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05174-0314-2

Es ist bereits festgestellt, dass in D.-Culturen in flüssigen Medien, auf der Oberfläche der Lösung Plasmodien und aus diesen die Luftstengel und Sporangien gebildet werden. Eine sorgfältigere Beobachtung zeigt indessen, dass einige Plasmodien (5—10 %) in der Flüssigkeit, am Boden der Schale, gebildet werden; dass jedes dieser Plasmodien sich zu einer kugelförmigen Masse sammelt und seine sämmtlichen Amöben in Sporen verwandelt. Jede solche kugelförmige Masse besteht einzig und allein aus einer Ansammlung von Sporen: sie ist weder von einer gewöhnlichen Wand umgeben, noch enthält sie irgend welche Stengelzellen. Diese Sporen haben die gewöhnliche Gestalt, d. h. sie sind oval, an den Enden gerundet und an den Seiten flach; sie sind keimfähig und scheinen in jeder Hinsicht den in der Luft gebildeten gleich zu sein. D. m. hat also zwei Fruchtarten: die eine besteht lediglich aus einer Ansammlung von Sporen; die andere, eine mehr differencirte Frucht, wird in der Luft gebildet und zeigt einen Sporangiumträger, der eine Kugel von Sporen (das Scheinsporangium) an seiner Spitze trägt. Der Hauptunterschied zwischen diesen beiden Fruchtformen ist, dass die letztere einen Stengel hat, während dieser der ersteren fehlt.

Weiterhin wurden Versuche zur Bestimmung der Ursache der Stengelbildung gemacht. Es wurden, wie gewöhnlich, Sporen auf Agar gesät; dann wurde Oel in verschiedener Tiefe bis zu 5 mm darüber gegossen. Die Ergebnisse lassen sich, entsprechend der Tiefe der Oelschicht, wie folgt eintheilen:

1. Die Oelschicht nicht tiefer als 1—2 mm. Das Plasmodium beginnt zur gewöhnlichen Zeit, nämlich nach Ablauf des dritten Tages, sich zu bilden. Es streckt dann mehrere Arme aus, die sich durch das Oel gegen die Oberfläche hin erheben. An verschiedenen Stellen dieser Arme, gewöhnlich am oberen Ende, sammeln die Amöben sich zu dichten Kugeln, die innerhalb weniger Stunden in Sporen verwandelt werden (s. Fig. 4).

Eine Untersuchung zeigt, dass die Arme sehr dünn sind, fast durchsichtig und aus kleinen, schwach entwickelten Zellen bestehen.[1]) Diese aus Zellen zusammengesetzten Arme sind also thatsächlich Sporangienträger und die Sporenbälle sind Sporangien. Ein Vergleich des Baues eines in der Luft gebildeten Stengels mit einem in

1) Erhebliche Schwierigkeiten bereitete die mikroskopische Untersuchung dieser Arme. Die besten Erfolge wurden erzielt, wenn sie zur Entfernung des Oeles in Wasser geschüttelt und dann in frischem Wasser aufgelegt wurden.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05174-0315-8

Oel gebildeten zeigt, dass im ersteren die Zellen gross und sechseckig sind, dünne, scharf abgegrenzte Wände haben und wenig Protoplasma enthalten. Der in Oel gebildete Stengel besteht aus kleinen rundlichen Zellen mit schlecht abgegrenzten Wänden. Diese Zellen enthalten eine grosse Menge Protoplasma, das nicht zur Wandbildung verwendet ist. Im Allgemeinen sieht der in der Luft wachsende Stengel aus wie eine cylindrische Säule mit einem scharf abgegrenzten Zellenbau, durch den er leicht von dem Sporangiumträger der *Mucoraceen* unterschieden werden kann. Der in Oel gebildete Stengel andererseits ist breit, flach und sehr ausgedehnt, als ob er so viele Oberfläche wie möglich darbieten wollte. Bei dieser Tiefe

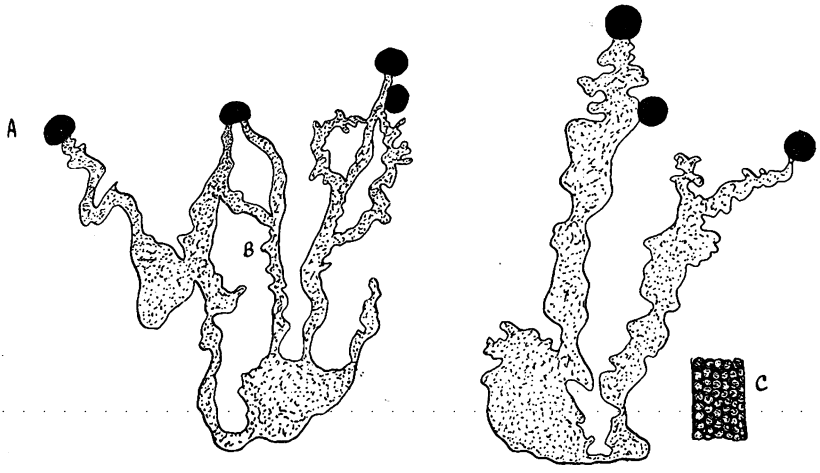


Fig. 4. Unter Oel gebildete Früchte. *A* Haufe von Sporen (Sporangium). — *B* Stengel. — *C* Stück des Stengels im optischen Durchschnitt bei stärkerer Vergrösserung. Die Zellen sind klein und enthalten noch viel Protoplasma, was nicht zur Wandbildung verwendet worden ist.

des Oeles trägt jede dieser abnormen Fructificationen 3—8 kleine Sporenkugeln.

2. Oelschicht von $1^1/_2$—2 mm Tiefe. Die Entwickelungsprocesse werden verzögert: 5—6 Tage sind nöthig, ehe Sporenbildung eintritt. Ferner werden in der Mehrzahl der Fälle (ca. 95 %) alle Amöben zur Bildung von Stengelzellen verwandt, ohne dass neben ihnen Sporen gebildet wurden. Nur ausnahmsweise (ca. 5 %) entstehen wie bei normaler Entwickelung Stengel und Sporen, und zwar um so seltener, je dicker die Oelschicht ist. Es geht aus diesen Versuchen hervor, dass der flüssige Aggregatzustand der

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05174-0316-4

Umgebung nicht nothwendigerweise die Stengelbildung verhindert.

Die Ursachen für die Wirkung der zunehmenden Oeltiefe sind offenbar in der Verminderung der Transpiration oder in der Einschränkung der verfügbaren O-Menge zu suchen. Da Sporen in Wasser gebildet werden können, ist die Sporenbildung von der Transpiration unabhängig; daher hat das Ausbleiben der Sporenbildung unter $1^1/_2$—2 mm Oel nichts mit der verringerten Transpiration zu thun. Es muss also der O-Mangel schuld gewesen sein, und daraus schliessen wir, dass die Sporenbildung mehr Sauerstoff verlangt als die Stengelbildung. Diese Erkenntniss befähigt uns weiter zu gehen und zu sagen, dass, weil unter Wasser Sporen gebildet werden, dort mehr als zur Stengelbildung nöthiger Sauerstoff vorhanden ist, und dass also das Ausbleiben der Stengelbildung unter Wasser nicht dem O-Mangel zuzuschreiben ist.

Wir wollen jetzt der Wirkung der anderen Unterschiede zwischen Luft und Lösung, wie sie von Klebs (5. Theil II) angegeben sind, nachgehen. Diese Unterschiede bestehen in ihrem verschiedenen Gehalt an CO_2 und N und in dem physikalischen Zustande, in dem Wasser in ihnen existirt: in der Luft als Gas; in einer wässerigen Lösung als Flüssigkeit.

1. Kohlendioxyd (CO_2). Luft enthält nur 0,04 % CO_2, während eine Lösung, in der Bacterien und D. m. wachsen, das Ganze der von ihnen ausgeathmeten CO_2 enthält. Solch eine Lösung enthält also zweifellos viel mehr CO_2 als Luft und es wäre möglich, dass das Uebermaass von diesem Gase die Stengelbildung verhindert. Um dies zu prüfen, wurde D. m. in einer CO_2-freien Atmosphäre und auch in einer CO_2-reichen Atmosphäre gezüchtet. Eine CO_2-freie Atmosphäre wurde durch Entfernung des CO_2 mit KOH erlangt. In einer solchen wuchs D. m. gut und die Stengelbildung war ganz normal. Eine CO_2-reiche Atmosphäre wurde dadurch erzielt, dass ein Becherglas mit H_2SO_4 und Na_2CO_3 unter eine Glasglocke gestellt wurde.[1]) Unter solchen Umständen gedieh D. m. gut und bildete normale Stengel. Wir sehen also, dass CO_2 keinen Einfluss auf die Stengelbildung hat; denn ein Stengel wird sowohl in einer CO_2-freien wie in einer CO_2-reichen Atmosphäre gebildet.

1) Um die Bildung einer mit Wasserdampf gesättigten Atmosphäre zu verhüten — ein Verfahren, dessen Ursache später dargelegt werden wird — wurde $CaCl_2$ unter die Glasglocke gebracht. Bei dem vorigen Versuch diente KOH ebenso zur Absorption von Wasserdampf wie von CO_2.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05174-0317-0

2. Stickstoff (N). Um zu prüfen, ob N zur Stengelbildung nöthig ist, wurde D. m. in einer N-freien Atmosphäre gezüchtet (es wurde eine Mischung von O und H benützt). Wie aber zu erwarten war, bildete D. m. normale Stengel.

3. CO_2, O, N, und der Aggregatzustand des Mediums an und für sich haben wir damit ausser Discussion gesetzt. Der einzige, noch übrige Factor, bezw. Factoren, ist der aus dem physikalischen Zustand des chemischen Substanz H_2O resultirende. Die Negirung des Einflusses all der anderen wichtigen Unterschiede ist der einzige Beweis, den wir dafür erbringen können, dass dies der wirksame Factor ist. Die Beobachtung der Erscheinung der Stengelbildung mag aber zu Gunsten dieses Factors sprechen. Wenn wir in Betracht ziehen, was es für ein Plasmodium ausmacht, ob es von Wasser in gasförmigem oder flüssigem Zustande umgeben ist, fällt es zunächst auf, dass es im ersteren Falle transpiriren kann, im letzteren aber nicht. In Wasser kann keine Transpiration stattfinden und ein Stengel wird nicht gebildet; in Oel kann eine schwache Transpiration stattfinden und es wird ein schwach entwickelter Stengel gebildet; in Luft kann Transpiration ungehindert vor sich gehen und ein voll entwickelter Stengel ist das Ergebniss. Ferner sind die Amöben während des Amöboidstadiums — seien sie in Lösungen oder auf der Oberfläche fester Medien — stets von einer Wasserschicht umgeben. Wenn sie sich aber zu einem Plasmodium gesammelt haben und dieses sich zusammengezogen hat, wird die Oberfläche des Plasmodiums, wenn man es unter dem Mikroskop betrachtet, dunkel, d. h. es kommt in directe Berührung mit der Luft und muss deshalb nothgedrungen Wasserdampf abgeben. Wenn dies eintritt, beginnt die Stengelbildung. Diese Thatsachen stützen die Ansicht, dass Transpiration die Ursache der Stengelbildung ist. Einen directen Beweis dafür können wir nicht liefern, denn wir können das Plasmodium, wenn es von flüssigem Wasser umgeben ist, nicht zur Transpiration veranlassen und können ebenso wenig in der Luft seine Transpiration verhindern. Für die Pilze sowohl wie für die höheren Pflanzen ist gezeigt, dass die Transpiration mit zunehmender relativer Feuchtigkeit der Atmosphäre abnimmt und umgekehrt, und man könnte denken, dass zur Verhinderung der Transpiration in der Luft nur die Produktion einer feuchtgesättigten Atmosphäre nöthig ist. Dem ist jedoch nicht so, denn die Pilze sind, vermöge ihrer activen Athmung, im Stande, ihre Körpertemperatur über die der umgebenden Luft hinaus zu erhöhen und können also in einer feuchtgesättigten Atmosphäre transpiriren (vgl. Pfeffer, 21).

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05174-0318-5

Man könnte meinen, die Thatsache, dass Licht in der Luft stärker wirkt als in Wasser, wäre die Ursache der Stengelbildung. Das ist jedoch nicht der Fall, denn D. m. kann einen Stengel im Finstern bilden. Ferner genügt weder die chemische Wirkung der in Nährlösungen enthaltenen Salze noch ihre physikalische Wirkung (osmotischer Druck) zur Begründeng des Ausbleibens der Stengelbildung, da selbst in reinem Wasser kein Stengel gebildet wird. Der Verhinderungsgrund der Stengelbildung in Wasser liegt also in dem flüssigen Wasser selbst, aber nicht durch seinen Aggregatzustand als solchen, sondern wahrscheinlich durch seine Wirkung auf die Transpiration. Es lässt sich die Transpiration als der „Morphogene Reiz" (Herbst, 20) für die Stengelbildung betrachten.

Einige Pilze bringen nur in der Luft Frucht; andere, wie D. m., bilden in Luft und Wasser verschiedene Fruchtformen. Es gibt zwei Ansichten zur Erklärung dieser Thatsache: a) die ältere von De Bary (19) und Van Tieghem (6), wonach die Menge des verfügbaren Sauerstoffs der ausschlaggebende Factor ist; b) die Ansicht von Klebs, dass die Erklärung in der Luftumhüllung zu suchen ist. Klebs erkennt aber an, dass ausser der Transpiration, die er als wahrscheinlichen Grund der Wirkung der Umhüllung mit Luft ansieht, die folgenden drei Factoren theilnehmen können.

1. Die nach der heute herrschenden Hypothese über die Molekularstruktur der Materie existirende verschiedene Bewegungsart der Flüssigkeit- und Gasmoleküle. Da D. m. seinen Stengel in einer Flüssigkeit, nämlich Oel, bilden kann, so ist dieser in der Theorie existirende Unterschied allein nicht einflussreich genug, um zu erklären, dass es in der Luft einen Stengel bildet, in Wasser aber nicht.

2. Bei Pilzfäden in einer nahrungshaltigen Flüssigkeit kann ein Stoffaustausch zwischen Zellsaft und der umgebenden Flüssigkeit über die ganze Oberfläche der Hyphen hin stattfinden; erhebt sich aber eine Hyphe in die Luft, so wird dieser Austausch auf die Fläche des Querschnitts, da wo sie aus der Flüssigkeit in die Luft übergeht, beschränkt. Der aus diesem Grund resultirende Unterschied in der Zusammensetzung des Zellsaftes nimmt, wie Klebs vermuthet, möglicherweise an der Anreizung der Lufthyphen zur Bildung von Fortpflanzungsorganen theil. Wenn D. m. unter Wasser ein Plasmodium bildet, ist und bleibt das ganze Plasmodium völlig von Flüssigkeit umgeben, auch nachdem das Plasmodium sich zu einer kugelförmigen Masse zusammengezogen hat. Ein auf der Wasseroberfläche gebildetes Plasmodium

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05174-0319-4

ist auch auf seiner ganzen Oberfläche mit einer Wasserschicht bedeckt. Zieht es sich jedoch zusammen, so kommt die äusserste Spitze eines solchen Plasmodiums in direkte Berührung mit der Luft und in diesem Stadium beginnt die Bildung von Stengelzellen. Eine Beobachtung der in diesem Moment eintretenden Veränderungen zeigt, dass der Theil des Plasmodiums, der in directe Berührung mit der Luft getreten ist, ausserordentlich gering ist. Kann nun diese schwache Verringerung der Diffussionsfläche der Grund sein, dass die Amöben sich in Stengelzellen verwandeln? Sicher nicht. Wäre eine Verminderung der von der Flüssigkeit bedeckten Fläche der Grund der Stengelbildung, so würden auch unter Wasser Stengel gebildet werden müssen: denn bei den unter Wasser wachsenden Plasmodien beträgt die durch ihre gelegentlichen Formveränderungen bedingte Oberflächenabnahme sehr oft bedeutend mehr als an den Plasmodien, die sich aus der Flüssigkeit gerade an die Luft erheben. Andererseits kann, wenn ein D. m.-Plasmodium völlig von Wasser umgeben ist, absolut keine Transpiration stattfinden. In dem Augenblick aber, wo das Plasmodium in directe Berührung mit der Luft kommt, muss unbedingt eine Transpiration eintreten und so wird, statt dass man eine schwache Zu- oder Abnahme eines schon vorhandenen Factors hat, etwas völlig Neues eingeführt. Wäre es zu verwundern, wenn D. m., wenn es einem neuen Einfluss ausgesetzt wird, zur Ausübung einer neuen Thätigkeit angereizt würde?

3. In Frage kommt die bei vielen Pilzen in einer Atmosphäre, die nur geringe Transpiration gestattet, stattfindende Wasserausscheidung. D. m. scheidet auch flüssiges Wasser aus und diese Ausscheidung mag vielleicht unter gewissen Umständen als ein zur Stengelbildung veranlassender Factor mitwirken.

Wir wollen nun die Wirkung verschiedener Transpirationsgrade auf die Eigenschaften des Stengels betrachten. Die Culturen wurden stets ins Dunkle gestellt. Wenn man eine Cultur in eine mit feuchtem Löschpapier belegte Schale legt, wird ein sehr langer vielästiger Stengel gebildet. Der längste Stengel, der so erzielt wurde, war 13 mm lang und hatte zwölf Aeste, deren jeder ein Sporangium trug. Wird nun die relative Luftfeuchtigkeit dadurch vergrössert, dadurch, dass man die Cultur in zwei oder drei in einander gesetzte Schalen verbringt, so nehmen die Länge des Stengels und die Zahl der Aeste allmählich ab. Wenn die Luft beinahe feuchtgesättigt ist, erscheint der Stengel auf etwa $^1/_{10}$ mm reducirt und ästelos. Aehnlich, wenn man statt für die Verminderung der Transpiration

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05174-0320-5

Sorge zu tragen, Massregeln zu ihrer Verstärkung ergreift, z. B. indem man den Deckel der Dose während des Plasmodiumsstadiums entfernt und die Culturen verschiedenen Temperaturen aussetzt: mit zunehmender Transpiration nimmt die Länge und der Aestereichthum des Stengels allmählich ab, bis der Stengel nur noch etwa $^1/_{10}$ mm lang und ästelos ist oder überhaupt nicht gebildet wird, sondern das Plasmodium sammelt sich zu einer Kugel und verwandelt seine sämmtlichen Amöben in Sporen. Aus diesen Experimenten schliessen wir, dass es, wie Klebs (5) für *Sporodinia* gezeigt hat, eine optimale, minimale und maximale Luftfeuchtigkeit für die Bildung des Stengels gibt; ferner ist die Werthlosigkeit der Länge des Stengels als einziges Kriterium für den Nährwerth eines Mediums zweifellos.

Wenn man eine D.-Cultur im Plasmodiumstadium in eine ganz feuchtgesättigte Luft hineinbringt, so wird nichtsdestoweniger ein Stengel gebildet. Dies beweist indessen, wie bereits gezeigt ist, nicht, dass Transpiration zur Stengelbildung nicht nöthig wäre. Bei der Optimaltranspiration sind die Stengelzellen sehr gross, zeigen einen sechseckigen Querschnitt und passen in einander ohne intercellulare Räume. Die Zellenwände sind scharf abgegrenzt, und das einzige übrigbleibende Protoplasma ist eine sehr dünne peripherische Schicht. Der übrige Theil des Protoplasmas ist zur Zellenwand verwandelt. Die weniger als $^1/_2$ mm langen Stengel andererseits sind aus Zellen von geringer Ausdehnung zusammengesetzt. Die Zellen haben schlecht abgegrenzte Wände und enthalten eine grosse Menge Protoplasma, das nicht zur Wand umgewandelt ist. Diese kleinen Zellen haben übrigens mit den unter Oel gebildeten grosse Aehnlichkeit.

Wir haben schon Versuche angeführt, die zeigen, dass weder CO_2 noch N oder O die Ursache der Stengelbildung sind. Jetzt liegt uns daran zu betonen, dass keiner dieser drei Factoren irgend welchen Einfluss auf den Charakter des Stengels hat. Es ist also der in einer CO_2- oder N-freien Atmosphäre gebildete Stengel ganz normal; ferner haben weder eine Verringerung des Partierdruckes des Sauerstoffs (der Luftdruck wurde auf 100 mm Quecksilber reducirt) noch eine Verringerung seiner absoluten Menge, innerhalb der in den Versuchen angewandten Grenzen, irgend welchen Einfluss auf den Stengel. Wir sehen also, dass Transpiration im krassen Gegensatz steht zu N, CO_2 oder O. Auf geeigneten Medien ist sogar die Transpiration allein ausschlaggebend dafür, ob ein Stengel 2—$2^1/_2$ mm lang und 1—2 Aeste bildet oder ob er 8—10 mm lang wird und 6—8 Aeste

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05174-0321-1

trägt.[1]) Die Thatsache, dass die Transpiration der einzige dieser vier Factoren ist, der irgend welchen Einfluss auf den Charakter des Stengels hat und dass ihr Einfluss durchaus entscheidend ist, unterstützt die früheren Folgerungen, dass sie die Ursache der Stengelbildung ist. Ferner wissen wir, dass überall, wo ein Stengel gebildet ist, Transpiration möglich ist.

Brefeld (2) sagt, dass D. m. sehr selten Aeste hat und sieht hierin das einzige Charakteristikum, das diese Gattung von *Polyspondylium,* dessen Aeste quirlförmig sind, unterscheidet. Grimm (3) stellt fest, dass der D.-Stengel gewöhnlich mit 1—2 Aesten versehen ist und hält dafür, dass die Verschiedenheit der Verzweigung dieser zwei Organismen nicht genügt, ihre Zugehörigkeit zu verschiedenen Gattungen zu gewährleisten. Meine Versuche zeigen, dass die Verzweigung von D. m. abhängt von der Beschaffenheit des Ernährungsmediums und der relativen Luftfeuchtigkeit. Auf nahrungsarmen Medien, wie auf Agar ohne Zusatz anderer Nährstoffe, ist der Stengel stets kurz, ganz gleichgültig wie gross die relative Luftfeuchtigkeit ist. Auf nahrungsreichen Medien andererseits variirt die Stengellänge von $^1/_{10}$ mm ohne Aeste bis zu 13 mm mit 12 Aesten je nach der relativen Luftfeuchtigkeit. Unter den gleichen Bedingungen ist die Verzweigung des D. m. aber stets dieselbe. So z. B. wenn D. m. in Petri-Schalen auf Maisagar bei einer Temperatur von 18—24° C. gezüchtet wird, ist der Stengel stets 2—$2^1/_2$ mm lang und hat 1—2 Aeste. Unter diesen Bedingungen soll *Polyspondylium* einen etwas längeren mit 3—4 Astquirlen versehenen Stengel bilden. In allen wesentlichen Zügen — Pseudoplasmodium von sehr flüchtiger Existenz, zelliger Sporangiumträger und Scheinsporangium — gleichen sich diese beiden Organismen vollständig, so dass die Verschiedenheit der Verzweigung allein — die, wie wir gesehen haben, so leicht variirbar ist — wohl einen ungenügenden Grund zur Aufstellung einer neuen Gattung abgibt.

Um zu bestimmen, ob die Sporangiumträger hydrotropische Krümmungen ausführen, wurden die folgenden Versuche gemacht. Von D.-Culturen im Plasmodiumstadium wurde der Deckel der Schale entfernt und ein Objectträger quer über die Schale gelegt. Das ist die von Klebs (5. Theil I) in seiner Arbeit über *Sporodinia grandis*

1) Dies gilt für gleich grosse Plasmodien und beruht völlig auf der Wirkung der Transpiration auf die Stengelbildung. Ueber den Einfluss der relativen Luftfeuchtigkeit auf die Grösse der Plasmodien siehe später.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05174-0322-6

angewandte Methode, bei der die Luft direct unter dem Objectträger feuchter gehalten wird als in dem übrigen Theil der Schale. Um Heliotropismus auszuschliessen, wurden die Culturen stets ins Dunkle gestellt. Wenn solche Culturen in eine sehr feuchte Luft verbracht werden, zeigen die Stengel direct unter dem Objectträger eine ausgesprochene Krümmnng nach der trockenen Atmosphäre hin, d. h. sie weisen einen negativen Hydrotropismus auf. Um einen positiven Hydrotropismus nachzuweisen, wurden wie für das vorige Experiment präparirte Schalen in eine trockene Luft gestellt. Die Stengel waren aber zu kurz, um eine deutliche Krümmung zu zeigen. Von den Sporangiumträgern der meisten *Mucoraceen* (Wortmann 10; Errera 11) ist es auch erwiesen, dass sie negativen Hydrotropismus aufweisen, und es unterliegt keinem Zweifel, dass der Zweck dieser Eigenschaft ist, den Sporangiumträger in eine trockene Luft zu bringen, um die Transpiration zu verstärken.

Zwecks Aufrechterhaltung einer niedrigen Temperatur wurden durch Verstreichen mit Vaselin luftdicht gemachte Dosenculturen in Wasser eingetaucht. Wiederholte Versuche, D. m. in solchen luftdicht gemachten Dosen — seien sie in Wasser eingetaucht oder nicht — zu züchten, schlugen fehl: die Amöben gingen stets schon als solche ein und erreichten nie das Plasmodiumstadium. Hier denkt man zunächst daran, dass O-Mangel schuld sei. Um mehr Sauerstoff zu verschaffen, wurde der Rest dieser Versuche in Petri-Schalen unter einer grossen luftdicht gemachten Glasglocke ausgeführt. Die Amöben starben aber wiederum. Um noch mehr Sauerstoff zu geben, wurde die Luft jeden Tag erneuert. Aber selbst dann blieb der Erfolg aus. Eine $^1/_2$—1 mm tiefe Oelschicht wurde über den Agar gegossen, um zu sehen, ob dies die Amöben vor den Wirkungen eines unbekannten Factors beschützen könnte: es war z. B. möglich, wenngleich nicht wahrscheinlich, dass das zur Luftdichtmachung verwendete Vaselin nicht rein war, und dass von ihm abgegebene Gase einen schädlichen Einfluss auf die Amöben ausübten. Aber auch dies führte nicht zum Ziel — die Amöben starben auch hier. Der Hauptpunkt, in dem sich die Luft in einem geschlossenen Raume von gewöhnlicher Luft unterscheidet, ist, dass sie feuchtgesättigt ist; und sobald man $CaCl_2$ unter die Glasglocke brachte, wurden normale Sporangien gebildet. Da $CaCl_2$ nur Wasserdampf absorbirt, ist dies ein Beweis, dass die Schädigung nicht von O-Mangel oder gar von dem Vorhandensein eines Uebermasses von CO_2 oder anderen, von den Amöben oder Bacterien ausgeathmeten Gasen herrührt, sondern dass sie lediglich darauf zurück-

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05174-0323-2

zuführen ist, dass die Luft feuchtgesättigt war. Weitere Experimente bestätigten, dass O-Mangel als Todesursache der Amöben keine Rolle spielt. Selbst wenn man fünf Petri-Schalen unter dieselbe Glasglocke stellte und Vorkehrungen zur Trocknung der Luft traf, wurden Sporangien gebildet, woraus sich ergibt, dass ein Fünftel der in der feuchtgesättigten Atmosphäre vorhandenen O-Menge ausreichte. Ferner wurden bei denselben Massregeln unter einem Luftdruck von 100 mm Quecksilber Früchte gebildet. Das beweist, dass der partielle O-Druck an der Schädigung keinen Antheil hatte. In einer feuchtgesättigten Atmosphäre wurden gelegentlich einige wenige zwergartige Sporangien gebildet; aber in allen Fällen gingen über 90 % der Amöben ein. Bact. fimbr. wächst in der feuchtgesättigten Luft sehr kräftig, und so hätte die Schädigung der Amöben von der grossen Menge Bacterienprodukte herrühren können. Culturen aber, die nach Ablauf der doppelten, für die Sporangienentwickelung unter geeigneten Umständen erforderlichen Zeit in der feuchtgesättigten Luft keine Frucht getragen hatten, trugen Frucht, wenn die Schalen dann in die gewöhnliche Luft des Laboratoriums verbracht wurden.[1]) Die Fruchtbildung auf demselben Medium nach seiner Entfernung aus der feuchtgesättigten Luft beweist, dass die Bacterienprodukte nicht schädlich waren. Die einzige sonst noch mögliche Wirkung einer feuchtgesättigten Luft scheint in der Verhinderung der Transpiration der Amöben zu bestehen. Da jedoch die Amöben und jungen Plasmodien von einer Wasserschicht umgeben sind, können sie überhaupt keinen Wasserdampf ausdünsten. Wiederum ist es unbegreiflich, wie D. m., das in Wasser leben und Plasmodien bilden kann, der Transpiration sollte bedürfen müssen, d. h. wie derselbe Organismus sich demselben Factor gegenüber in zweierlei Art und Weise verhalten kann. Die schädliche Wirkung einer feuchtgesättigten Luft muss also eine indirecte sein. Kulturen in flüssigen Medien ergaben dasselbe Resultat wie auf festen: befanden die Amöben sich in einer solchen Luft, so starben sie als solche, ehe sie das Plasmodiumstadium erreichten; während in demselben Medium befindliche Controlculturen, die in der frischen Luft standen, gut Frucht trugen. Die Periode, während welcher eine feuchtgesättigte Atmosphäre schädlich ist, ist das Amöbenstadium; denn die Sporen keimen in einer solchen Atmosphäre, aber die Amöben sterben, ehe

1) Aus der zur Fruchtbildung nach der Entfernung der Culturen aus der feuchtgesättigten Luft in Anspruch genommenen Zeit folgt es, dass die Sporangien aus ungekeimten Sporen gebildet waren und nicht aus den wenigen Amöben, die wahrscheinlich noch lebten.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05174-0324-8

sie das Plasmodium erreichen. Wenn D. m. unter einer luftdichten, an einem Orte mit sehr wechselnder Temperatur, z. B. in einem mit einem eisernen Ofen geheizten Raume, aufgestellten Glasglocke gezüchtet wird, so gedeiht es und bildet normale Sporangien. Auf den ersten Blick scheint dies der früher aufgestellten Behauptung zu widersprechen. In Wirklichkeit jedoch besteht kein Widerspruch, weil mit jeder Temperaturerhöhung die Luft ihre Sättigung mit Wasserdampf verliert. Thatsächlich beweist dies Experiment, dass die schädliche Wirkung eines luftdicht verschlossenen Raumes der gewöhnlich darin vorherrschenden feuchtgesättigten Atmosphäre zuzuschreiben ist. Die ganze Frage ist eine physiologische Thatsache, aber ein Räthsel.[1])

Wenn man eine D-Cultur in Flüssigkeit untersucht, sieht man, dass ca. 90 % der Amöben auf der Oberfläche des Wassers leben, und dass nur etwa 10 % auf dem Boden der Schale sind. Ziehen wir ferner in Betracht, dass D. m. stark aërobisch ist, so wird es wahrscheinlich, dass die Nothwendigkeit einer nicht feuchtgesättigten Atmosphäre in der fortgesetzten Verdunstung der die Amöben bedeckenden Wasserschicht beruht, und dass die Amöben dadurch ständig mit O enthaltendem Wasser versorgt werden. Um diese Ansicht zu prüfen, wurde folgendes Experiment ausgeführt. Eine D-Cultur wurde unter eine luftdicht verschlossene Glasglocke gestellt. Durch den Pfropfen der Glocke führten zwei Glasröhren, von denen die eine mit einer Pumpe und die andere mit drei wassergefüllten Drechselflaschen von ca. 20 cm Höhe verbunden war. Die durch die Pumpe zugeführte Luft musste durch die Drechselflaschen hindurchsprudeln. Auf diesem Wege wurde ein ununterbrochener Strom feuchtgesättigter Luft über die Cultur hingeführt. Unter diesen Umständen gedieh D. m. gut und trug Frucht. Sowohl bei Culturen nach gewöhnlicher Art als auch bei Anwendung der Wasserflaschen lässt sich ein absolut dampfgesättigter Raum nicht herstellen. Den Unterschied, der im Resultat der beiden Versuchsreihen sich ergab, wird man, nach meiner Ansicht, darauf zurückführen müssen, dass bei Anwendung der Drechselflaschen die strömende wasserdampfreiche Luft immer noch ein Minimum von Wasserdampfausdünstung gestattete, während in Dosen mit ruhendem Luftgehalt jegliche Ausdünstung ausgeschlossen bleiben musste. Dieser Versuch beweist, dass die schädliche Wirkung einer feuchtgesättigten

1) D. m. ist der einzige mir bekannte niedrige Organismus, der nicht in einer feuchtgesättigten Atmosphäre leben kann; für das vegetative Stadium ziehen ja die meisten niedrigen Organismen eine sehr feuchte Luft vor.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05174-0325-4

Atmosphäre in der Verhinderung der Ausdünstung von Wasserdampf liegt; denn wäre eine solche Atmosphäre aus irgend einem anderen Grunde schädlich, so war diese Luft so gesättigt, dass sie es gezeigt hätte. Gegen die Thatsache, dass wir bei diesem Experiment frischen Sauerstoff einführen, kann kaum Einspruch erhoben werden, denn wir haben vorher gezeigt, dass die schädliche Wirkung eines luftdicht verschlossenen Raumes völlig darauf beruht, dass sie mit Wasserdampf gesättigt ist.

Die Betrachtung der Nahrung von D. m. verleiht der oben angegebenen Ansicht (siehe pag. 321) Nachdruck, denn wir haben gezeigt, dass D. m. sich von Bacterien nährt und es ist bekannt, dass eine eiweissreiche Nahrung grosse Mengen Sauerstoff erfordert: so ist der Respirationscoefficient $\left(\frac{CO_2 \text{ ausgeathmet}}{O \text{ eingeathmet}}\right)$ von pflanzenfressenden Thieren etwa 1, der von fleischfressenden dagegen nur etwa $^3/_4$. Wenn wir diese Ansicht als die richtige Erklärung annehmen, müssen wir den Schluss ziehen, dass in flüssigen Culturen alle Amöben auf der Oberfläche der Flüssigkeit gelebt haben müssen, und dass die wenigen auf dem Boden der Schale gebildeten Plasmodien aus untergesunkenen Amöben gebildet sind. Sicher verursacht die Circulation von Wasserdampf auch eine Circulation aller anderen Gase; aber wie dies D. m. Vortheil bringen könnte, ist nicht zu ersehen.

Wir wollen hier noch die Frage, wie die Amöben an die Oberfläche von Flüssigkeiten gelangen, erörtern. Da D. m. keine Flagellen hat, kann es nicht frei schwimmen; es muss also entweder an der Wand der Schale emporkriechen oder seine Dichtigkeit verändern können. Aus gewöhnlichen flüssigen Culturen kann man nicht mit Sicherheit darüber entscheiden, denn sogar in ganz jungen Culturen ist bei gewöhnlicher Aussaatmethode die Oberfläche nicht ganz amöbenfrei zu bekommen. Um alle Sporen auf dem Boden der Schale zu fixiren, wurden sie in Gelatine gesät und diese wurde in einer dünnen Schicht auf den Boden zweiter breiter Schalen ausgegossen, wo sie erstarren musste. Ferner wurde, um die Amöben am Hinaufkriechen zu verhindern, die Innenwand der einen Schale mit Vaseline bestrichen. Dann wurde Maisextract in die Schalen gegossen. Die Amöben gelangten in beiden Schalen an die Oberfläche, und erschienen in beiden Fällen zunächst am Rande. Daraus schliessen wir, dass sie an der Wand hinaufkriechen. Vaselin vermag ihre Bewegungen nur zu verzögern, da sie die Oberfläche der bestrichenen Culturen erst nach Ablauf von drei Tagen, anstatt 48 Stunden, erreichten.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05174-0326-9

Das Hinaufkriechen an die Oberfläche ist zweifellos eine aërotropische Bewegung. Hatten die Amöben einmal die Oberfläche erreicht, so genügte ihr breiter flacher Körper im Verein mit der Oberflächenspannung der Flüssigkeit völlig, sie zu tragen. Das Plasmodium konnte sich ebenfalls mit den von der Oberflächenspannung unterstützten, weit ausgebreiteten Armen oben halten. Die Luftfrucht wird durch einen weiten kreisförmigen Fuss am unteren Ende des Sporangiumträgers aufrecht gehalten. Plasmodien bilden sich auf der Oberfläche der Flüssigkeit und auf dem Boden der Schalen, aber nicht dazwischen. Diejenigen, die sich auf der Oberfläche bilden, tragen in der Luft Frucht, und diejenigen, die sich auf dem Boden der Schale bilden, bleiben dort und werden unter dem Wasser zu Sporen umgewandelt. Dass die Plasmodien nicht die Fähigkeit besitzen, sich durch eine Flüssigkeit zu erheben, wurde dadurch bewiesen, dass über Agarkulturen im Plasmodiumstadium Wasser gegossen wurde: die so unter Wasser gesetzten Plasmodien bildeten unter Wasser Sporen und erhoben sich nie an der Oberfläche. Brefeld (1) spricht davon, dass das Plasmodium sich durch die Nährlösung hindurch erhebt; aber ich war, wie gesagt, nicht im Stande, dies zu bestätigen.

Um zu prüfen, ob die Amöben durch feste Medien kriechen können, wurden die Sporen in einem Tropfen Agar auf ein Deckglas gesät, und nachdem der Tropfen fest geworden war, wurde eine dünne Schicht flüssigen Agars darüber gegossen, die dann ebenfalls fest wurde. Eine mikroskopische Beobachtung zeigte, dass Amöben, wenn sie der Oberfläche sehr nahe sind, durch eine dünne Schicht der festen Masse kriechen und zur Fruchtbildung an die Oberfläche gelangen können. Befinden sie sich jedoch tiefer in dem Agar, so bilden sich die Plasmodien in der festen Masse und sämmtliche Amöben werden in Sporen umgewandelt. Wenn die Sporen noch tiefer liegen, keimen sie überhaupt nicht.

Es wurde gefunden, dass die relative Luftfeuchtigkeit einen grossen Einfluss auf die Grösse der Plasmodien ausübt. Die Plasmodien erreichen ihre Maximalgrösse in Culturen, die im Dunkeln stehen und in eine andere mit feuchtem Löschpapier ausgelegte Schale gestellt werden. Unter solchen Verhältnissen beträgt die Länge der Plasmodienarme (Radien) etwa 10 mm. Wird die hier festgehaltene Luftfeuchtigkeit vergrössert oder verringert, so nimmt die Grösse der Plasmodien ab. So waren in Culturen, die ebenfalls ins Dunkle, aber nicht in eine andere Schale hineingestellt wurden, und bei denen der Dosendeckel einen Tag nach der Aussaat fort-

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05174-0327-5

genommen wurde, die Plasmodienarme nur 3 mm lang, d. h. die von diesen Plasmodien bedeckte Fläche ist nur den zehnten Theil so gross wie beim vorigen Experiment. Aehnlicherweise in dem Maasse, wie sich der Wassergehalt der völligen Sättigung nähert, nimmt die Grösse der Plasmodien allmählich ab. Es ist leicht zu verstehen, dass eine feuchte Luft dadurch, dass sie die Oberfläche des Agars feucht erhielt, die Bewegung der Amöben fördern und so die Bildung grosser Plasmodien begünstigen konnte. Man sieht aber zunächst nicht ein, weshalb der Luftfeuchtigkeit eine Grenze gesetzt sein sollte, denn man sollte erwarten, dass die Fortbewegung der Amöben leichter würde, wenn die Oberfläche des Agars feuchter wird. Wenn die früher zur Erklärung des Sterbens der Amöben in einer feuchtgesättigten Luft vorgeschlagene Ansicht (siehe pag. 321) richtig ist, so folgt daraus, dass bei steigendem H_2O-Gehalt und daher herabgesetzter Verdampfung die Amöben mit weniger Sauerstoff versorgt sind, und dass daher ihre Lebenskraft reducirt ist. Eine Betrachtung dieser beiden Factoren, der Leichtigkeit, mit der die Amöben Sauerstoff erhalten, und der Feuchtigkeit des Substrats, erklärt zur Genüge, weshalb es eine bestimmte relative Luftfeuchtigkeit gibt, bei welcher die grössten Plasmodien gebildet werden: unter diesen Verhältnissen ist eine ausreichende Transpiration vorhanden, um genug Sauerstoff zur Aufrechterhaltung der Lebenskraft der Amöben zu liefern, und gleichzeitig ist die Oberfläche des Agars feucht genug, um eine freie Fortbewegung zu gestatten.

Zwei Factoren, die Grösse der Plasmodien und die relative Luftfeuchtigkeit während der Zeit der Stengelbildung, sind von Wichtigkeit für die Bestimmung der Länge des Stengels. So ist die Maximallänge der Sporangienträger, nämlich 13 mm, nur auf Culturen zu erreichen, die von der Aussaat an in einer Atmosphäre erhalten werden, deren relative Feuchtigkeit ungefähr dieselbe ist wie die, bei der die grössten Plasmodien gebildet werden. Dieses Beispiel zeigt 1. den Einfluss der Grösse des Plasmodiums auf die Länge des Stengels; 2. dass die Optimalfeuchtigkeit der Plasmodiumbildung ungefähr dieselbe ist wie die der Stengelbildung. Andererseits, wenn man Culturen mit Riesenplasmodien beim Beginn der Zusammenziehung der Arme in eine trockene Atmosphäre versetzt, werden verhältnissmässig kurze Stengel gebildet.

Wenn man ein Plasmodium, das sich gerade auf dem Boden der Schale zu einer Kugel zusammengezogen hat, aus der Flüssigkeit entfernt und in eine trockene Schale verbringt, streckt es einen Stengel empor und bildet normale Frucht. Dies zeigt, dass das in den Amöben

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05174-0328-1

enthaltene Wasser, wenn die Züchtung unter geeigneten Umständen vorgenommen ist, genügt, um sie zur Bildung von Stengelzellen zu befähigen. Die folgenden Experimente, bei denen Salze mit einer hohen Wasseranziehungskraft benutzt wurden, zeigen die Wirkung der gehemmten Wasserabsorption auf die Amöben. Von Agar (1 %) wurden 20 ccm mit vier vorher bei 100° C. getrockneten Maiskörnern in eine Petri-Schale gelegt. Dazu wurde KNO_3 in verschiedenen Mengen, bis zu 10 %, zugesetzt. Dann wurde der Agar sterilisirt. Auf dem 5 % KNO_3 enthaltenden Agar findet bis zum siebten Tage keine Keimung statt, und nachher nehmen die Amöben eine sphärische, cylindrische oder perlschnurförmige Gestalt an. Die charakteristisch länglich-schmale Form, welche die Amöben gewöhnlich vor der Plasmodienbildung annehmen, fehlt hier, und die Amöben behalten durchaus ihre eigenthümliche Form. Es werden keine typischen langarmigen Plasmodien gebildet: die Amöben schieben sich einfach zu Haufen zusammen, die sich zusammenziehen, bis sie dichte sphärische Massen bilden, und senden dann einen Stengel empor. Die Bildung des Stengels, dessen Zellen sehr klein bleiben, ist sehr verzögert und scheint mit grossen Schwierigkeiten verknüpft zu sein; oft ist das Resultat, dass er während der Bildung zusammenfällt, worauf die Amöben wieder zusammenkriechen und die Bildung eines neuen Stengels versuchen, wobei sie mitunter Erfolg haben und dann an der Spitze des zweiten Stengels Sporen bilden. Bei dieser Concentration erfordert die Fruchtbildung 14—16 Tage. Die Stengel, die völlig ausgebildet werden, sind nur $^1/_4$—$^3/_4$ mm lang. Auf dem 5,5 % KNO_3 enthaltenden Agar sammelt sich das Plasmodium zu einer Kugel und bildet Sporen, ohne einen Stengel zu entwickeln. Auf 6 % KNO_3 enthaltendem Agar liegen die Sporen 14 Tage ehe sie keimen, und die Amöben sterben nach 10—14 Tagen, ohne Frucht zu tragen. Bei stärkeren Concentrationen findet keine Keimung statt. Concentrationen bis zu 1 % KNO_3 haben keine schädliche Wirkung; aber von da an aufwärts werden die Lebensprocesse verzögert und der Stengel wird immer kürzer, je mehr die Concentration zunimmt. Die vorstehenden Experimente wurden mit flüssigen Medien wiederholt. Es wurden Lösungen von KNO_3 in verschiedenen Stärken von 0,1 bis 5 % vorbereitet, und zu 20 ccm einer jeden vier, vorher bei 100° C. getrocknete Maiskörner in eine Schale verbracht. Dann wurden die Lösungen sterilisirt. In Concentrationen bis zu 0,5 % KNO_3 trägt D. m. auf der Oberfläche normale Frucht. In stärkeren Concentrationen haben die Amöben knotenförmige oder cylindrische Gestalt,

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05174-0329-9

aber sie bringen es trotzdem fertig, sich auf der Oberfläche zu halten. Plasmodien mit langen weiten Armen wurden jedoch nicht gebildet: die Amöben vereinigen sich zu Haufen, die sich zusammenziehen und endlich untersinken. Während also die Oberflächenspannung der Flüssigkeit ausreicht, um die einzelnen Amöben jede für sich zu tragen, sind die Produkte dieser Vereinigung so dicht, dass sie sinken. D. m. trägt in dieser Art auf dem Boden der Schale Frucht in Lösungen, die von etwas mehr als 0,5 % bis zu 3,5 % KNO_3 enthalten. Eine Concentration, bei der Keimung stattfindet, Fruchtbildung aber ausgeschlossen ist, wurde nicht gefunden. Eine Concentration von etwas mehr als 0,5 % KNO_3 reicht an und für sich nicht zur Verhinderung der Stengelbildung aus; denn wenn nach dem Untersinken der Plasmodien genug Flüssigkeit entfernt ist, so dass die Oberfläche der Fruchtanlage der Luft ausgesetzt ist, streckt die Anlage einen Stengel empor, obgleich sie zu drei Vierteln in die Lösung eingetaucht ist. Dasselbe tritt auch bei einer Lösung mit 1,5 % KNO_3 ein; daher beruht die Thätigkeit von Lösungen dieser Concentrationen bei der Verhinderung der Stengelbildung darin, dass sie die Fruchtanlage veranlassen, so dicht zu werden, dass sie in die Flüssigkeit sinkt und so die Transpiration verhindert. Einen weiteren Beweis hierfür fand ich darin, dass bei Anwendung einer dickflüssigen Lösung mit 1,5 % KNO_3, wie sie durch Anwendung einer grösseren Anzahl Maiskörner und wiederholte Sterilisirung hergestellt werden kann, die Fruchtanlage nicht untersinkt, sondern auf der Oberfläche bleibt und Stengel und Sporangien in der Luft bildet. Nach Analogie der auf Agar erzielten Resultate ist es jedoch wahrscheinlich, dass in einer bestimmten Concentration auch in flüssigen Medien die Fruchtanlage wegen zu geringen Wassergehaltes der Amöben, selbst in directer Berührung mit der Luft, unfähig sein würde, einen Stengel zu bilden. In Flüssigkeiten wie auf Agar war eine Verstärkung der Concentration von einer entsprechenden Verzögerung der Lebensprocesse begleitet; so machten Sporen in der 3 % KNO_3 enthaltenden Lösung in 14 Tagen keine grösseren Fortschritte als Sporen in 0,1 % KNO_3 in 36 Stunden. Es ist bemerkenswerth, dass das Wachsthum von D. m., während es in Flüssigkeiten bei 3,5 % KNO_3 (mit vier Maiskörnern auf 20 ccm) aufhört, auf Agar (ebenfalls mit vier Maiskörnern auf 20 ccm) bis zu 5,5—6 % KNO_3 stattfindet. Folgendes sind die wahrscheinlichen Gründe, weshalb D. m. auf Agar einer grösseren Concentration widerstehen kann als in Flüssigkeiten: 1. Die Amöben sind kräftiger, wenn sie auf festen Medien in directer Berührung mit

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05174-0330-0

der Luft wachsen. 2. Das auf der Oberfläche des Agars ausgeschiedene Wasser ist vielleicht von geringerer Concentration als das Nährmedium selbst. Man kann nicht behaupten, dass auf Agar die Amöben mit nur geringerer Oberfläche der Wirkung des osmotischen Druckes ausgesetzt sind, weil selbst auf festen Medien die Amöben in eine Wasserschicht eingehüllt sind.

Um zu prüfen, ob ausgetrocknete Sporen keimfähig sind, wurden Wassertropfen, die Sporen enthielten, auf Deckgläser gelegt und dann musste das Wasser verdunsten. Die Sporen wurden später durch Zusatz eines Tropfens Maisextract befeuchtet. Die Experimente zeigten, dass die Sporen keimfähig sind, nachdem sie ausgetrocknet sind, vorausgesetzt, dass die Austrocknung nicht länger als 10—12 Tage anhält. Die Versuche wurden oft wiederholt, da Brefeld bei ähnlichen Experimenten fand, dass die Sporen noch nach 5—6 Wochen anhaltender Austrocknung keimfähig waren. In dem Hauptpunkt nämlich, dass die Sporen der Trockenheit widerstehen können, stimmen wir überein, und auch darin, dass die Zeit, während der sie der Trockenheit Widerstand leisten können, relativ kurz ist. In welcher Jahreszeit Brefeld's Experimente gemacht wurden, ist nicht gesagt. Die meinigen wurden im Juli ausgeführt und wenn die Brefeld'schen im Winter vorgenommen sein sollten, könnte die feuchtere Luft die Sporen befähigt haben, auf eine längere Zeit Widerstand zu leisten. Aber kaum sollte man erwarten, dass das einen solchen Unterschied wie zwischen 12 und 40 Tagen veranlassen könnte. Ist dies nicht die richtige Erklärung, so muss man sich nothgedrungen zu der Annahme entschliessen, dass es zwei verschiedene Arten von D. m. gibt, die, obschon morphologisch gleich, physiologisch verschieden sind. Wenn die Sporen feucht erhalten werden, behalten sie ihre Keimfähigkeit wenigstens fünf Monate. D. m. hat weder Mikro- noch Polycysten, so dass die Sporen seine einzigen Organe sind, die der Trockenheit Widerstand leisten können (s. später).

III. Einfluss anderer äusserer Umstände: Temperatur, Licht und Reaction des Mediums.

a) Temperatur.

Eine Bestimmung der Cardinaltemperaturen für D. m. zeigte, dass das Maximum 27° C., das Minimum zwischen 0° und 7° C., und das Optimum etwa 23—25° C. ist. Eine starke Verzögerung des Wachsthums ist bemerkbar, wenn die Temperatur bedeutend unter

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05174-0331-6

dem Optimum liegt, wie bei 11° C., wo der Lebenskreislauf sieben Tage in Anspruch nimmt und bei 7° C., wo zur Fruchtentwickelung 15—18 Tage nöthig sind. Wenn bei der Optimaltemperatur annähernd die gleiche Anzahl Sporen auf das gleiche Medium gesät wird, werden in 3—4 Tagen Sporangien gebildet. Nach Klebs' Grundsätze des Verhältnisses von Wachsthum und Fortpflanzung (5, Theil III) soll es zwei Temperaturen geben, eine dem Maximum und eine dem Minimum nahe stehende, bei denen Wachsthum stattfinden kann, Sporenbildung aber ausgeschlossen ist. Diese in der Theorie existirenden Temperaturen waren, wie bei der sehr einfachen Frucht des D. m. zu erwarten war, jedoch nicht nachweisbar.

Die Maximaltemperatur, der die Sporen Widerstand leisten können, wenn sie feucht erhalten werden, wurde geprüft, indem sie auf Agar gesät und dann verschiedenen Temperaturen ausgesetzt wurden. Es zeigte sich, dass die eigentliche Temperatur, der zu widerstehen die Sporen fähig sind, von der Dauer, für die sie dieser Temperatur ausgesetzt sind, abhängt: so können D.-Sporen 49° C. nicht länger als vier Stunden aushalten; 42° C. dagegen zwei Tage. Obgleich die Sporen bei 0—1° C. nach Ablauf einer Woche nicht gekeimt haben, sind sie doch nicht getödtet.

b) Licht.

Licht gehört nicht zu den für das Wachsthum von D. m. nothwendigen Bedingungen, denn D. m. wächst genau so gut im Dunkeln wie in diffusem Tageslicht. Werden die Culturen direct den Sonnenstrahlen ausgesetzt, so wird D. m. und auch Bact. fimbr. getödtet. Andere Versuche wurden derartig angestellt, dass die durch die Sonnenstrahlen bedingte Erwärmung ausgeschlossen wurde. Diese Culturen wurden fünf Tage lang der Sommersonne ausgesetzt. Unter diesen Umständen gedieh D. m. und bildete normale Sporangien und Bact. fimbriatum wuchs ganz normal. Auch war keine hemmende Wirkung des Lichtes auf das Wachsthum bemerkbar.

Der folgende einfache Versuch zeigt, dass die schädliche Wirkung der Sonnenstrahlen auf das Ruhestadium beider Organismen völlig der dadurch bedingten Erwärmung zuzuschreiben ist. D-Sporen und Bact. fimbr. wurden in Wasser in Reagenzgläsern geschüttelt. Eines von diesen (Glas A) wurde dann ins directe Sonnenlicht gestellt, ohne dass Vorkehrungen getroffen wurden, die Temperatur am Steigen zu verhindern. Das andere (Glas B) wurde ebenfalls ins directe Sonnenlicht gestellt, aber etwa 20—30 mm tief in ein Gefäss mit, durch fort-

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05174-0332-2

gesetzte Erneuerung, kühl gehaltenem Wasser getaucht. Als sie vier Tage gestanden hatten — etwa 36 Stunden einer Julisonne ausgesetzt —, wurde das in den Reagenzgläsern befindliche Wasser über Agar gegossen. Glas A zeigte sich völlig steril; Glas B dagegen ergab ein durchaus normales Wachsthum von Bact. fimbr. und auch von D. m. Bact. fimbr. gehört also zu den wenigen Bacterienarten, die durch Licht nicht geschädigt werden — abgesehen natürlich von der Wärmewirkung. Eine Studie von Flügge (8, pag. 441) zeigt, dass die meisten Bacterien durch Licht geschädigt werden; einige sind sogar sehr empfindlich dagegen. Einige wenige andererseits, wie z. B. Engelmann's *Bacterium photometricum* und ein Coccus, den Schenk aus Fäces isolirte, werden vom Licht begünstigt. Der Fall von D. m. ist nicht so auffällig; so fand Klebs bei seinen Untersuchungen über *Sporodinia* (5, Theil I) und *Saprolegnia* (5, Theil II), dass, wenn die Culturen kühl gehalten werden, die directe Sonne keinen schädlichen Einfluss ausübt. Ferner hat (nach Flügge) Gaillard gezeigt, dass Licht das Wachsthum mehrerer Pilze begünstigt.

Stark diffusses Licht hemmt das Wachsthum der Sporangiumträger und verursacht eine Verringerung ihrer Aestezahl. So sind die in stark diffusem Tageslicht erzielbaren maximalgrossen Sporangiumträger 6 mm lang und haben 3—4 Aeste, während im Dunkeln 13 mm lange Sporangiumträger mit 12 Aesten gebildet werden können. Ausserdem kommt noch die Wirkung des Lichtes auf die Transpiration in Frage. Dieses kann die Länge der Stengel entweder vergrössern oder verringern, je nachdem es die Transpiration dem für die Stengelbildung geltenden Optimum nähert oder sie weiter von ihm entfernt. Dass Licht die Transpiration fördert, wird dadurch gezeigt, dass caeteris paribus in fast ganz feuchtgesättigter Atmosphäre, bei diffusem Tageslicht längere Stengel gebildet werden als im Dunkeln. Wenn wir uns daran erinnern, dass es eine gewisse Transpiration gibt, bei der die maximal grossen Sporangiumträger gebildet werden, so können wir mit Recht den Schluss ziehen, dass in einer fast gesättigten Atmosphäre die Stengel im Licht länger sind, weil die Transpiration dem Optimum näher gebracht, d. h. erhöht ist, und dass in einer Atmosphäre, in der die Optimaltranspiration eintritt, die Stengel kürzer sind, weil Licht hemmend auf ihr Wachsthum wirkt. Bonnier und Manguin (12) haben gezeigt, dass diffuses Licht die Transpiration der Pilzhyphen verstärkt, und Vines (13) für *Phycomyces,* Stameroff (14) für *Mucor mucedo* haben nachgewiesen, dass Licht das Wachsthum der Sporangiumträger einschränkt. Beide Wirkungsarten des

Universitätsbibliothek Regensburg urn:nbn:de:bvb:355-ubr05174-0333-8

Lichtes auf den Stengel des D. m. sind also auch für andere Pilze bekannt.

Wenn D.-Culturen in schwaches Licht gestellt und nur von einer Seite beleuchtet werden, tritt deutlicher positiver Heliotropismus der Stengel zu Tage. Grosse Sorgfalt muss jedoch darauf verwendet werden, eine Atmosphäre einheitlich feuchtgesättigt zu erhalten, da der Stengel viel empfindlicher ist für Hydrotropismus als für Heliotropismus. Dies und die kürzeren Stengel sind wahrscheinlich die Gründe, weshalb in starkem Licht keine heliotropische Wirkung, weder positiv noch negativ, nachweisbar ist. Hydrotropismus mag auch der Grund sein, weshalb Versuche, Geotropismus des Stengels nachzuweisen, fehlschlugen. So wachsen auf normalen Agarculturen die Stengel vertical in die Höhe, und wenn die Agarplatten umgedreht werden, wachsen die Stengel vertical nach unten. Wird ferner D. m. auf Pferdeäpfeln gezüchtet, so wachsen die Stengel radial sowohl aus dem oberen Theil wie aus den Seiten des Mistes heraus. Die Stengel wachsen also in jedem Falle rechtwinklig zu dem Substrat, d. h. direct von der feuchten Oberfläche hinweg, gerade als ob sie der negative Hydrotropismus allein leitete.

c) Reaction des Mediums.

Die Wirkung dieses Factors wurde festgestellt durch Züchtung in flüssigen Medien. Als Typus von Alkali wurde Na_2CO_3 benutzt. In 0,1—0,2 % Na_2CO_3 enthaltenden Lösungen erreichte D. m. seine Optimalentwickelung; es wächst hier besser als in neutralen Lösungen. Bei 0,5 % Na_2CO_3 ist eine deutliche Verzögerung des Wachsthums bemerkbar, und diese nimmt mit dem Alkaligehalt zu, bis in 0,8 % Na_2CO_3 enthaltenden Lösungen kein Wachsthum mehr stattfindet. Von Weinsäure ist 0,2 % das Maximum, von Phosphorsäure (H_3PO_4) dagegen 0,01 %.

Diese Resultate stimmen mit denen Nadson's überein, der fand, dass D. m. eine schwache alkalische Reaction bevorzugt, sich aber auch in säurehaltigen Medien entwickeln kann. D. m. ist also einer der wenigen Pilze, die Alcalescenz bevorzugen. Sein Erscheinen in der Natur auf Pferdemist und seine Verbindung mit Bacterien lassen dies erwarten, wenn man bedenkt, dass die meisten Bacterien aus stickstoffhaltigen Substanzen Ammoniak oder ammoniakartige Substanzen bilden. Auffällig ist es aber, dass D. m. verhältnissmässig stark alkalische Medien verträgt.

IV. Recapitulation und allgemeine Betrachtungen.

Recapitulation: Die Lebensgeschichte von D. m. sammt den wichtigen Zügen, durch die es sich von anderen Myxomyceten unter-

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05174-0334-4

scheidet, wurde in der Einleitung gegeben. Für die Keimung der Sporen sind Sauerstoff, Phosphat, organische Substanzen und Wasser nothwendig. Die Amöben sind stark aërobisch. Eine bacterienfreie Cultur von D. m. liess sich nicht erzielen und es wurde gezeigt, dass Bacterien zu seiner Ernährung nöthig sind. D. m. wurde mit Reinculturen von vier verschiedenen Bacterienarten combinirt: D. m. + Bact. fimbr., D. m. + *Bac. megatherium*, D. m. + *Bac. subtilis*, D. m. + *Bac. fluor. liq.* D. m. kann sich nicht von den Stoffwechselprodukten dieser Bacterien ernähren, sondern erhält seine Nahrung von den Bacterien selbst. Wenn D. m. in Bacteriencolonien wächst, werden diese gewöhnlich durchsichtig; ihre Färbung zeigt, dass die Bacterien verdaut sind und dass alles, was übrig bleibt, Bacterienreste — unverdaute Ueberbleibsel — und einige wenige Involutionsformen sind. Die Bacterienverdauung ist der Process, durch den D. m. sich nährt. Um Bacterien ausserhalb seines Körpers zu verdauen, müsste es zu diesem Zwecke ein Enzym absondern. Lebende Bacterien hat D. m. nicht unbedingt nöthig. Es kann auch todte Bacterien verdauen: seine Fähigkeit dazu hängt aber von dem zur Tödtung der Bacterien verwendeten Agens und der specifischen Bacterienart ab. Das Wachsthum von D. m. mit irgend einer Bacterienart hängt von dem angewendeten Ernährungsmedium ab. Obgleich D. m. nur mit vier Bacterienarten gezüchtet wurde, kann es zweifellos mit vielen anderen Arten wachsen, vorausgesetzt, dass geeignete Medien benutzt werden. D. m. kann entweder auf festen oder in flüssigen Medien gezüchtet werden, wächst aber im Allgemeinen auf festen besser. Ueppig wächst es z. B. in Maisextract oder auf Agar, der aus Mais hergestellt ist oder verschiedene künstliche N- und C-Verbindungen, wie NH_4NO_3, Maltose etc., enthält. Es bevorzugt schwache Alcalescenz, kann aber auch auf säurehaltigen Medien wachsen. Als Maximalalcalescenz, die es aushalten kann, ergab sich 0,8 % Na_2CO_3; als Maximalacidität 0,02 % Weinsäure oder 0,01 % Phosphorsäure. Die Optimalreaction liefert 0,1 – 0,2 % Na_2CO_3. Die Frucht des D. m. tritt in zwei Modificationen auf: eine in Wasser, eine in der Luft. Der Hauptunterschied zwischen diesen beiden ist, dass die Luftfrucht einen Stengel hat, während die in Wasser gebildete nur aus einer Sporenkugel besteht. Mit anderen Worten: Sporen werden in Luft und auch in Wasser gebildet; Stengel andererseits nicht in Wasser. Dabei ist es nicht der flüssige Aggregatzustand, der als Hemmungsgrund in Frage kommt, sondern anscheinend die durch Gegenwart des Wassers verhinderte, für Stengelbildung unent-

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05174-0335-9

behrliche Transpiration. Obgleich die Amöben in eine Wasserschicht eingehüllt sind, können sie in einer feuchtgesättigten Luft nicht leben. In flüssigen Culturen leben die Amöben auf der Oberfläche. Der Stengel ist negativ hydrotropisch und positiv heliotropisch. Es gibt für die Stengelbildung eine Optimal-, Maximal- und Minimal-Transpiration. Wird die Temperatur niedrig erhalten, so hat Licht keinen schädlichen Einfluss auf D. m. Diffuses Licht hat auf den Stengel einen zweifachen Einfluss: es verzögert sein Wachsthum und verstärkt seine Transpiration. Die die Länge des Stengels hauptsächlich bestimmenden Factoren sind die Grösse des Plasmodiums und die Luftfeuchtigkeit. Es gibt ein Optimum Luftfeuchtigkeit, bei dem die maximalgrossen Plasmodien gebildet werden. Die Sporen haben folgenden Grad der Widerstandsfähigkeit: Das Maximum der Zeit, während welcher sie von der Luft ausgetrocknet werden können, ohne ihre Keimfähigkeit zu verlieren, beträgt 10—12 Tage; sie behalten ihre Keimfähigkeit, wenn sie einer feuchten Temperatur von 49° C. ausgesetzt werden, mindestens 1 Stunde. Die Cardinaltemperaturen für das Wachsthum sind: Maximum 27° C., Optimum 23—25° C., Minimum 0—7° C. D. m. bildet keine Cysten (s. später).

Klebs (5, Theil III) unterscheidet, je nachdem die Fruchtbildung in Luft oder in Flüssigkeit stattfindet, die folgenden Classen von Pilzen:

1. Fruchtbildung nur in Flüssigkeit, z. B. *Saprolegnia, Bacterien.*
2. Fruchtbildung nur in Luft, z. B. *Sporodinia, Eurotium repens.*
3. Eine Fruchtart wird nur in der Luft, eine andere nur in Flüssigkeit gebildet, z. B. einige *Ascomyceten* und *Basidiomyceten:* die Conidien werden nur in Flüssigkeit gebildet und die differenzirtere Fruchtform nur in der Luft.
4. Dieselbe Fruchtart kann sowohl in Flüssigkeit als in der Luft gebildet werden. In diesem Falle kann die ganze Frucht in Flüssigkeit und in der Luft gleich sein; die Luftsporen können verschieden von den in Flüssigkeit gebildeten sein; oder die Sporen selbst sind, ob in Luft oder Flüssigkeit gebildet, die gleichen, aber der übrige Theil der Frucht ist verschieden.

Wenn man diese Eintheilung annimmt, gehört D. m. zu der letzten Abtheilung der 4. Klasse, denn ein Vergleich seiner in Luft und Wasser gebildeten Früchte zeigt, dass die Sporen selbst in beiden Fällen gleich, im übrigen aber die Früchte verschieden sind. Die in Luft ist stärker differenzirt, da sie aus einem Stengel und Sporen besteht, während in Wasser der Stengel fehlt. Ferner sind die

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05174-0336-5

Luftsporen von einer dünnen Schicht einer mit Gentianaviolett färbbaren Substanz umgeben, die, wenn sie mit Wasser in Berührung kommt, plötzlich anschwillt und so die schnelle Verbreitung der Sporen ermöglicht. Es sind bereits vier ähnliche Fälle beschrieben: *Nectria cinnabarina, Volutella ciliata* von Werner (15), *Didymium difforme* von Marshall Ward (16) und *Didymium effusum* von Klebs (5, Theil III). Der Unterschied in dem Grade der Differenzirung tritt am stärksten bei Didymium effusum hervor: die Luftfrucht hat einen Stengel, eine Inkrustirung von Kalk und ein gut entwickeltes Capillitium; die in Flüssigkeit gebildete besteht nur aus Sporen mit schwachen Resten eines Capillitiums.

Für viele der Thallophyten haben Klebs (5, Theil III) und seine Schüler gezeigt, dass Nahrungsmangel den ersten Anstoss zur Fortpflanzung gibt und ich machte einen Versuch, dasselbe für D. m. zu zeigen. Dazu braucht nur bewiesen zu werden, dass keine Fortpflanzung stattfindet, so lange hinreichend Nahrung vorhanden ist. Wenn D. m. in Maisextract gesät wird und man dafür sorgt, dass die Flüssigkeit höchstens 10 mm tief steht, wächst es gut und die Oberfläche ist am dritten Tage mit Amöben bedeckt. Wenn einige dieser Amöben entfernt und in frischen Maisextract verbracht werden, wachsen sie und theilen sich und die Oberfläche dieser Lösung wird im Laufe von 2—3 Tagen mit Amöben bedeckt. Wenn dieser Process der Neusaat jeden zweiten oder dritten Tag wiederholt wird, kann D. m. weitergezüchtet werden, ohne dass es Sporen bilden kann. Auf diese Art wurde D. m. während $3^1/_2$ Monaten des Sommersemesters 1901 gezüchtet und während dieser Zeit wurden keine Plasmodien gebildet: es blieb ununterbrochen im Amöbenstadium. Es konnte aber jederzeit Sporangienbildung veranlasst werden: dazu brauchte man die Culturen nur stehen zu lassen, bis sie vier oder fünf Tage alt sind. D. m. wurde auch ein Monat lang in anderen Nährlösungen gezüchtet (nämlich in einer, die Leucin, Rohrzucker und anorganische Salze enthielt, und in einer anderen mit Harnsäure, Rohrzucker und anorganischen Salzen), ohne ihm eine andere als vegetative Vermehrung zu gestatten. In diesen beiden Mischungen gedeiht D. m. auch gut (mit Bact. fimbr.), aber man muss bedeutend sorgfältiger verfahren als bei Maisextract. Maisextract ist für derartige Experimente hervorragend geeignet, weil er nicht leicht von Bacterien zersetzt wird. D. m. kann in ihm mit mehreren Bacterienarten zugleich wachsen, während in leichten zersetzbaren Lösungen das Eindringen gewisser fremder Bacterienarten die Entwickelung von D. m.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05174-0337-1

verhindert. Die beiden für eine erfolgreiche Ausführung dieses Experimentes in Maisextract nothwendigsten Vorsichtsmassregeln sind, dass die Flüssigkeit frisch ist und nicht zu hoch steht. Wie bereits gesagt, behauptet Nadson (4), dass Flüssigkeiten für die Entwickelung von D. m. ungünstig sind; die Thatsache jedoch, dass D. m. $3^1/_2$ Monate lang in einer Flüssigkeit gezüchtet wurde, beweist das Gegentheil. D. m. wuchs nach Ablauf der $3^1/_2$ Monate so kräftig wie beim Beginn des Experimentes; eine einfache Berechnung zeigt, dass die Amöben sich überaus oft getheilt haben müssen.

Wir wollen jetzt den Fortpflanzungsprocess näher betrachten. Alles darüber gründlich erklären können wir nicht; wir müssen uns darauf beschränken, das Problem aus einander zu setzen und in einzelnen Fällen auf wahrscheinliche Gründe für die verschiedenen Stufen hinzudeuten. Die Stufen des in der Luft stattfindenden Processes sind:

1. Zusammenlegen der Amöben resp. Plasmodiumbildung. Nahrungsmangel haben wir schon als den Anlass zur Plasmodiumbildung erkannt. Was er aber in den Amöben für Veränderungen bewirkt, damit sie sich zusammenlegen und an einander haften bleiben, ist gänzlich unbekannt. Das D.-Plasmodium stellt eine ganz eigenartige Structur dar, zu der wir keine physikalische Analogie kennen; es besteht aus zusammengelegten, aber nicht verschmolzenen Amöben. Die fast mathematische Genauigkeit, mit welcher die Arme mancher Plasmodien strahlenförmig rings um den Mittelpunkt vertheilt sind, scheint beinahe auf einen chemotaktischen Einfluss hinzudeuten.

2. Aufsteigen des Plasmodiums aus der Flüssigkeit in die Luft. Bald nachdem die Arme sich zusammenzuziehen begonnen haben, erhebt sich das Centrum und bricht dabei die das Plasmodium bedeckende dünne Wasserschicht durch. Die Erhebung des Centrums wird wohl dadurch ermöglicht, dass es sich auf die ausgebreiteten Arme stützt. Man kann dieses Aufsteigen wahrscheinlich als eine aërotropische Bewegung ansehen. Dafür spricht das aus mehreren Versuchen hervorgehende starke O-Bedürfniss des vegetativen Stadiums (s. oben) und die Versuche unter Oel erwiesen, dass die Sporenbildung noch mehr O verlangt, als für die Stengelbildung oder das vegetative Stadium nöthig ist. Plasmodien, die am Boden der Schalen gebildet werden, sammeln sich zu einer Kugel (s. unten) und wenn die sie bedeckende Wasserschicht tief bleibt, behält die Kugel ihre Gestalt, ohne im geringsten ihre Oberfläche zu erheben;

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05174-0338-7

die O-Differenz ist wohl zu gering, um eine Bewegung hervorzurufen. Das Hinaufkriechen des Plasmodiums an dem sich entwickelnden Stengel ist wohl eine Fortsetzung dieses Aufsteigens.

3. Stengelbildung. Sind die Amöben einmal in Berührung mit der Luft gekommen, so müssen sie nothgedrungen Wasserdampf abgeben und dies haben wir schon als auslösenden Reiz, als „Morphogenen Reiz" der Stengelbildung erkannt. Ferner ist es verständlich, dass der negative Hydrotropismus (und im Licht der positive Heliotropismus) den sich entwickelnden Stengel in Regionen führt, die zur Transpiration geeignet sind.

4. Aufhören der Stengelbildung und Sammlung des übrigbleibenden Theils des Plasmodiums zu einer Kugel am Ende des Stengels. Ein wahrscheinlicher physikalischer Grund dafür, dass das Plasmodium sich zu einer Kugel zusammenschliesst, ist sehr schwer zu finden, denn nehmen wir einen flüssigen Aggregatzustand des Plasmas (Berthold) an, so darf das Plasmodium immer noch nicht als eine einzige homogene Flüssigkeit, sondern bloss als ein Haufen von zusammengelegten unmischbaren Tropfen betrachtet werden. Von Oberflächenspannung als Ursache der kugelförmigen Gestalt kann also nach unseren jetzigen Kenntnissen kaum die Rede sein.

5. Umwandlung in Sporen. Die Amöben der Kugel werden in Sporen umgewandelt. Eine Betrachtung der Lage, in welcher der sich verlängernde Stengel sich befindet, zeigt, dass je mehr seine Spitze sich von der Nährmediumoberfläche entfernt, die sie umgebende Luft um so trockener wird. Die Transpiration des Stengels befindet sich dadurch in stetiger Steigerung. Andererseits wissen wir, dass es einen gewissen Grad der Transpiration gibt, bei der Stengelbildung nicht mehr möglich ist, wohl aber Sporenbildung (s. pag. 317). Darnach wird es wahrscheinlich, dass der Grund für das Aufhören der Stengel- und den Anfang der Sporenbildung in dem Grad der Transpiration zu suchen ist. Dafür spricht auch, dass in feuchter Luft die Stengel länger sind, d. h. die Sporangien weiter von der Oberfläche entfernt sind, als in trockener Luft. Wahrscheinlich spielt auch der fortschreitende Nahrungsmangel eine gewisse Rolle bei Veranlassung der Sporenbildung; letztere könnte z. B. eintreten, nachdem die Nahrungsmenge bis zu einem gewissen Minimum gesunken war.

Die Fruchtbildung unter Wasser ist viel einfacher. Die verschiedenen Stufen dieses Processes sind:

1. Zusammenlegen der Amöben resp. Plasmodiumbildung. Man vergleiche dasselbe Stadium der Luftfruchtbildung.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05174-0339-5

2. Zusammenschluss des Plasmodiums zu einer Kugel. Dieses Stadium kann man vielleicht vergleichen mit dem bei der Luftfruchtbildung stattfindenden Zusammenschluss des Plasmodiums am Ende des Stengels.

3. Umwandlung in Sporen. Der Grund für diese Umwandlung ist völlig unbekannt: Der immer zunehmende Nahrungsmangel scheint der wahrscheinlichste Grund zu sein. Im Gegensatz zu dem Vorgange bei der in der Luft stattfindenden Sporenbildung ist unter Wasser überhaupt keine Transpiration möglich. Doch scheinen die in beiden Fällen gebildeten Sporen morphologisch und physiologisch ganz gleich zu sein.

Betreffs der Fruchtbildung überhaupt, sei es in der Luft oder im Wasser, wollen wir noch bemerken, dass weder Sporen- noch Stengelbildung stattfinden kann, wenn nicht vorher ein Plasmodium gebildet worden ist. Wir schliessen dies daraus, dass die Amöben stets erst, nachdem sie an der Bildung eines Plasmodiums betheiligt gewesen sind, Sporen bilden. Bildeten sie vor dem Durchgang durch das Plasmodiumstadium Frucht, so wären diese den Mikrocysten anderer Myxomyceten analog. Offenbar finden dann in den Amöben während des Plasmodiumstadiums irgend welche Veränderungen statt, die es ihnen erst möglich machen, je nach Umständen Stengel oder Sporen zu werden. Das Plasmodium ist also mehr als ein rein mechanisches Zusammenlegen und „Aneinanderhaftenbleiben". Da andererseits unter Wasser Sporen, aber keine Stengel gebildet werden, schliessen wir, dass die Stengelbildung kein wesentlicher Vorläufer der Sporenbildung ist.

Werden Amöben, die im Begriff stehen, Sporen zu werden, wieder in eine nahrungsreiche Lösung gebracht, so werden sie wieder vegetativ und ihre Nachkommen entwickeln im Laufe der Zeit Stengel und Sporangien [1]). Wir sehen also, dass es während der Sporenbildung an Nahrung in der Umgebung fehlen muss, wenn Fruchtbildung eintreten soll. Sind jedoch die Amöben dem Sporenstadium schon zu nahe gekommen, bevor sie von Neuem in frische Nahrung verbracht werden, so werden sie nicht wieder vegetativ und auch der Sporenbildungsprocess geht nicht weiter, sondern die Amöben sterben. Die junge, in der Entwickelung begriffene Frucht fast aller Thallophyten verhält sich genau wie die beschriebene von D. m., d. h. sie kann, bevor ein gewisses Stadium erreicht ist, wieder vegetativ werden; hat sie aber dieses Stadium überschritten, so wirkt frische Nahrung auf sie wie Gift (Klebs 5, Theil III).

1) Dieser Versuch ist schon von Van Tieghem (9) gemacht worden.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05174-0340-6

Wenn D. m. unter Wasser Sporen bildet, geht das ganze Plasmodium in Sporen über, so dass ebensoviele Sporen gebildet werden, wie Amöben in dem Plasmodium waren. Bei der Fruchtbildung in der Luft andererseits werden nur etwa halb so viele Sporen gebildet, als Amöben im Plasmodium waren, da die andere Hälfte zur Stengelbildung verbraucht wird. Bei Bildung der Luftfrucht geht also die Hälfte der Amöben zu Grunde; bei Bildung der Wasserfrucht wird dieser Verlust vermieden. Die Luftfrucht wird dafür durch den Vortheil entschädigt, dass die Sporen durch Luftströmungen von der Spitze des Stengels fort auf frische Nährflächen getragen werden können. Bei anderen Pilzen wird die Fortpflanzung von einer enormen Vermehrung der Anzahl der Individuen begleitet; z. B. bei der Condienbildung von *Penicillium glaucum*. Die Fortpflanzung von D. m. dagegen wird durch keine Zunahme irgend welcher Art unterstützt. Ihre einzige Function ist die Erhaltung der Art unter ungünstigen Verhältnissen, denn bildete D. m. nicht bei Nahrungsmangel Sporen, so würden die Amöben untergehen. Die eigentliche Vermehrung von D. m. findet während des Amöbenstadiums statt, doch wird dies allgemein als vegetative Vermehrung und nicht als Fortpflanzung angesehen.

Nadson erhielt, ausser der Isolirung von D. m. mit *Bac. fluor. liq.*, eine bacterienfreie D.-Cultur. Die absolut reinen Culturen sind jedoch, wie er constatirt, klein und abnorm geformt und sind schwach und leicht vergänglich. Er fand, dass diese Culturen nicht auf längere Zeit ohne Bacterien gezüchtet werden konnten; oft wuchsen sie überhaupt nicht, wenn sie ausgesät wurden. Ich habe bacterienfreie Sporangien gefunden und sie auf Ernährungsmedien gesät, aber nie bemerkt, dass sie Frucht trugen; ich habe überhaupt nie bemerkt, dass D. m. seinen Lebenskreislauf ohne Bacterien durchgemacht hätte. Anhaltspunkte, um Nadson's Resultate und die meinigen einheitlich zu deuten, geben uns die Erfahrungen mit nahrungsarmen Culturflüssigkeiten. So werden, wenn man D. m. in P-haltiges Leitungswasser sät, bisweilen einige zwergartige Sporangien gebildet. Dies hängt von der Zahl der gesäten Sporen ab: wird nur eine kleine Zahl gesät, so sterben die Amöben; wird aber eine grosse Zahl gesät, so bringen sie es zur Fruchtbildung. Aehnlich liegen anscheinend die Verhältnisse bei Nadson's Culturen. Ist die Zahl der bacterienfreien gekeimten Amöben (Nadson) hinreichend gross, so ist Plasmodium- und Fruchtbildung möglich; ist ihre Zahl zu gering, so bleibt beides aus, da eine vorherige vegetative Vermehrung der Amöben ohne Bacterien ebenso ausgeschlossen scheint, wie derselbe Vorgang in

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05174-0341-2

Leitungswasser. Nur die Ernährung der Amöben ist eben von der Gegenwart der Bacterien abhängig; ohne die letzteren spielen sich alle Wandlungen auf Kosten der Reservematerialе der ursprünglichen Sporen ab.

Wenn man D. m. mit z. B. *Bac. megatherium* auf Fleischextractagar sät und die Cultur nach Ablauf des dritten oder vierten Tages untersucht, sind die Bacteriencolonien sehr deutlich. Eine neue Untersuchung, etwa am siebenten Tage, zeigt die Platte oft mit einer grossen Menge von D. m. bedeckt, während von den Bacterien keine Spur mehr vorhanden ist: wir haben anscheinend eine bacterienfreie D.-Cultur. Das völlige Verschwinden jeder makroskopischen Spur der Bacterien begegnet uns nur bei Colonien, die wenig Schleim enthalten. Wenn die Colonien viel Schleim enthalten, wie z. B. die von Bact. fimbr. auf KNO_3-Agar (Tabelle III), ist das Resultat des D.-Wachsthums in ihnen nicht die vollständige Entfernung aller Spuren des Bacteriums, sondern nur das Klarwerden der Colonien.[1]) Aehnlich mögen auch auf Medien wie Maisagar, auf denen Bacterien nur schwach wachsen, keine deutlichen Colonien der letzteren zu stande kommen — Züchtungsversuche offenbaren aber bald ihre Gegenwart. Diese Thatsachen sind angeführt, um zu illustriren, wie leicht man sich täuschen und eine bacterienfreie D.-Cultur zu haben glauben kann. Ferner sind aus einer Bacteriencolonie aufspringende Sporangien gelegentlich bacterienfreie, so dass bacterienfreie Sporangien kein Beweis sind, dass D. m. ohne Bacterien leben kann.

Nadson hatte das grosse Verdienst, die Begünstigung der Entwickelung des D. m. durch Bacterien zu entdecken; er geht wohl aber zu weit, wenn er behauptet, dass eine Symbiose zwischen D. m. und Bac. fluor. liq. besteht. Er sagt in seinem Résumé: „Entre ces deux organismes il existe une association ou un symbiose, qui est démontré péremptoirement par les expériences." Zunächst: die Worte „Association" und „Symbiose" haben nicht die gleiche Bedeutung. Allerdings ist das Verhältniss eine Association, aber der Ausdruck ist zu unbestimmt und zu allgemein, als dass wir durch seine Anwendung irgend etwas gewinnen. Ob das Verhältniss eine Symbiose ist, hängt von der Bedeutung ab, die wir diesem Worte beilegen. Die zutreffendste Bedeutung des Ausdruckes Symbiose, die ich finden kann, ist die von Marshall Ward (17) gegebene, der Symbiose erklärt als „das Zusammenwirken zweier vereinigter Or-

1) Die zufällige Beobachtung dieser klaren Schleimmassen führte zum Verständniss des Verhältnisses der Bacterien zu D. m.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05174-0342-8

ganismen zu ihrem beiderseitigen Vortheil." („The co-operation of two associated organisms to their mutual advantage.") Diese Bedeutung wollen wir annehmen; offenbar legt auch Nadson dem Worte dieselbe bei, denn er sagt, er glaube, obgleich die Art des gegenseitigen Nutzens nicht zur Zeit hinreichend erkennbar ist, dass Bac. fluor. liq. die Entwickelung des D. m. dadurch begünstigt, dass es durch Bildung von Ammoniak den Nährboden alkalisch macht. Andererseits fördert D. m. das Wachsthum des Bac. fluor. liq., indem es ihm organische Substanzen in der Form leerer Sporenhüllen, der Substanz der „Hypothallus" und der „Columella", wie Nadson sagt, darbietet. Den Vortheil, den das Bacterium durch die Versorgung mit solchen Substanzen hat, kann ich übrigens nicht hoch anschlagen, denn diese bestehen hauptsächlich aus Cellulose (Brefeld 1) und müssen, ihrer Function entsprechend, sehr widerstandsfähig und unzersetzbar sein. Nachdem wir die Zerstörung von etwa 90 % der Bacterien einer Colonie, in der D. m. wächst, gezeigt, ihre Verdauung verfolgt (siehe pag. 301) und erwiesen haben, dass die wenigen übrig bleibenden Bacterien abgeschwächt sind (siehe pag. 303), ist es eigentlich müssig, von einer Symbiose zu reden. Sorgfältige vergleichende Züchtungsversuche wiesen überdies durchaus nicht darauf hin, dass Bact. fimbr. aus seiner Verbindung mit D. m. irgend welchen Vortheil zog. Die Thatsache, dass D. m. mit wenigstens vier verschiedenen Bacterienarten wachsen kann, macht ebenfalls die Existenz einer Symbiose zweifelhaft, wenn sie auch nichts Entscheidendes gegen sie beweist. Wiederum sind, wenn D. m. und Bact. fimbr. dünn auf Nähragar gesät werden, 7—10 Tage erforderlich, bevor D. m. Frucht trägt, und die Amöben sind zuerst so selten, dass sie bis etwa zum vierten Tage nicht leicht zu finden sind. Bact. fimbr. dagegen hat sein Wachsthum in 3—4 Tagen beinahe vollendet, ehe noch D. m. anfängt zu wachsen, oder jedenfalls bevor die Amöben zahlreich genug werden, um irgend einen merklichen Einfluss auf die Bacterien auszuüben. Dies ist ein sehr gewichtiger Punkt gegen die Annahme einer Symbiose. Wüchse Bact. fimbr. nach Entwickelung des D. m. etwas besser, so würde man dieses eher auf die durch D. m. bewerkstelligte Entfernung gewisser, von dem Bacterium gebildeter und seine Thätigkeit hemmender Stoffwechselprodukte zurückführen können, als auf die ernährende Wirkung vereinzelter leerer Sporenhüllen. Denn wo 7—10 Tage zur Fructification gebraucht werden, können wir mit Recht annehmen, dass die Sporangien in einer einzelnen Bacteriencolonie aus einer oder höchstens aus zwei oder drei Sporen ent-

Universitätsbibliothek Regensburg urn:nbn:de:bvb:355-ubr05174-0343-3

sprungen sind. Ich bin geneigt, die Verbindung von D. m. mit Bacterien als einen Fall anzusehen, wie ihn Marshall Ward (17) als Antibiose beschreibt, d. h. wo einer der beiden Organismen den anderen schädigt, wie z. B. beim Parasitismus. Man könnte also D. m. als auf Bacterien schmarotzend ansehen. Freilich muss man zugeben, dass Bacterien zwischen den D.-Sporen vorkommen und dadurch mit den Sporangien auf neue Nährflächen getragen werden. Doch ist dies wohl ein zweifelhafter Vortheil: sie werden in Wirklichkeit als Beute mitgeschleppt.

Brefeld (2) sagt, dass die zur Fruchtbildung erforderte Zeit unabhängig davon ist, ob man wenig oder viel Sporen sät. Allerdings hat wahrscheinlich ein geringer Unterschied in der Zahl der gesäten Sporen keinen merklichen Unterschied in der zur Fruchtbildung gebrauchten Zeit zur Folge. Dass ein grosser Unterschied in der Zahl der Sporen von Wichtigkeit ist, wird dadurch bewiesen, dass auf Nähragar, auf dem die Sporen sehr dünn gesät sind, und wo vermuthlich die Sporangien einer Bacteriencolonie alle aus einer einzelnen Spore entsprungen sind, 7—10 Tage zur Fruchtbildung erforderlich sind, wohingegen auf demselben Medium nur 3—4 Tage nöthig sind, wenn die Sporen dick gesät sind.

Es ist bereits gezeigt, dass D. m. vegetativ wächst, so lange es genug Nahrung zur Verfügung hat. Ein anderer Factor, der vielleicht auf die zur Fruchtbildung erforderliche Zeit Einfluss hat, sind die von D. m. gebildeten Stoffwechselprodukte. Um zu prüfen, ob diese Wirkung ausüben, wurde das folgende Experiment gemacht: D. m. und Bact. fimbr. wurden in Maisextract gezüchtet. Nachdem Sporangien gebildet waren, wurde die Lösung durch einen Kinijounfilter getrieben. Von dem Filtrat wurden 20 ccm mit 30 ccm concentrirtem Maisextract gemischt. Als Controllösung wurden 20 ccm destillirtes Wasser ebenfalls mit 30 ccm desselben Extractes gemischt. Auf diese Weise enthalten beide Lösungen annähernd dieselbe Menge Nährstoff. Dann wurden gleiche Quantitäten von beiden in Schalen gegossen, sterilisirt und mit D. m. geimpft. Der Erfolg war, dass in den die Stoffwechselprodukte enthaltenden Schalen etwa 24 Stunden mehr gebraucht wurden, um Frucht zu entwickeln, als in den Controlschalen. Daraus schliessen wir, dass die Stoffwechselprodukte nicht fördernd auf die Fruchtbildung wirken und dass D. m. in den die Stoffwechselprodukte enthaltenden Schalen längere Zeit wuchs, weil die angewendeten 20 ccm des vorher gebrauchten Maisextractes noch benutzbare Nahrung enthielten. Obgleich kein Beweis dafür erbracht

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05174-0344-9

ist, haben die Bacteriologen lange vermuthet, dass die Stoffwechselprodukte eines Bacteriums eine wichtige Rolle als Reiz zur Sporenbildung spielen. Es ist daher von Interesse, zu zeigen, dass dies bei D. m. nicht der Fall ist.

Ich habe früher gesagt, dass D. m. keine Cysten hat; Brefeld aber beschreibt solche Organe — Mikrocysten. Brefeld konnte bestimmte Resultate betreffs der Bedingungen zur Cystenbildung nicht erhalten; ist aber der Meinung, dass weder langsame Ausdünstung noch die chemische Zusammensetzung der Lösung von Bedeutung sind. Da die aus den Cysten resultirenden Amöben nicht dazu gebracht werden konnten, Sporangien zu bilden, konnte es nicht bestimmt erwiesen werden, ob die Cysten zu D. m. gehörten. Durch ihr häufiges Vorkommen in D.-Culturen und durch die Aehnlichkeit der aus ihnen resultirenden und der D.-Amöben liess sich Brefeld jedoch überzeugen, dass D. m. solche Zustände hat. Am Anfang dieser Arbeit kamen in den Culturen oft Cysten vor, und es lag kein Grund vor, Brefeld's Angaben anzuzweifeln. Später wurde es nothwendig, einen physiologischen Unterschied zwischen Sporen und Cysten festzustellen, und dazu brauchte man grosse Mengen der letzteren. D. m. war damals mit Bact. fimbr. isolirt und nun werden Reinculturen — D. m. + Bact. fimbr. — gebraucht. Es wurden mehrere Versuche gemacht, bei denen die Ernährungsflüssigkeit verdunsten konnte, wenn D. m. in dem Amöbenstadium war. Sie verliefen jedoch alle erfolglos. Endlich wurden Sporen in sterilisirtes P-haltiges Leitungswasser gesät — ein Medium, in dem die Sporen zwar keimen, das aber zur Fruchtbildung nicht genug Nahrung enthält. In dieser Lösung starben die Amöben als solche, ohne Cysten zu bilden. In keinem einzigen Falle, wo es sicher war, dass nur D. m. und Bact. fimbr. vorhanden waren, wurden Cysten gebildet. Versuche, Sporangien aus Cysten zu erzielen, die als Verunreinigung in einigen Culturen sich fanden, schlugen auch stets fehl. Brefeld's Angabe, dass die Cystenmembran nicht aus Cellulose besteht, dass aber die Membranen der Sporen und der Stengelzellen von Cellulose sind, ist bemerkenswerth und unterstützt die Annahme, dass er es mit fremden Cysten zu thun hatte. Ich folgere daraus, dass D. m. keine Mikrocysten hat. Wenn man es einem D.-Pseudoplasmodium an Wasser fehlen lässt, theilt es sich in die einzelnen Amöben und diese sterben, so dass D. m. auch keine Polycysten hat. D. m. und *Polysphondylium,* das ebenfalls keine Cysten hat (Brefeld 2) stehen also in starkem Contrast zu den typischen Myxomyceten, die beim geringsten Anlass Cysten — entweder Mikro-

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05174-0345-5

oder Polycysten — bilden. Weshalb D. m. und Polysphondylium nicht die Fähigkeit haben, Cysten zu bilden, kann experimentell nicht ergründet werden; vermuthlich steht dieser Mangel im Zusammenhang mit der zeitlichen Kürze ihres Lebenskreislaufes. So kommt es, wenn sie in der Natur auf Pferdemist wachsen, selten vor, dass die äusseren Umstände sich im Laufe von 3—5 Tagen so verändern, dass sie die Entwickelung dieser Organismen ernstlich hemmen. Vielleicht haben diese Myxomyceten die Fähigkeit ihrer Vorfahren, Cysten zu bilden, verloren, weil sie nicht in die Lage kommen, von ihr Gebrauch zu machen.[1])

Brefeld (1) handelt ziemlich ausführlich über die Bedingungen für das Keimen und für die Entwickelung von D. m. Er sagt, das Vorkommen des Organismus in der Natur auf Mist weise darauf hin, dass ein N-reiches Substrat nöthig sei. Er behauptet, dies bewiesen zu haben und ebenso, dass die Sporen nur in einer N-reichen Flüssigkeit keimen können. Er bemerkte einen grossen Unterschied in der Entwickelung in verschiedenen Pferdemistdecocten und glaubte und bewies, dass dies auf die Qualität des Mistes zurückzuführen sei. So erwies sich das Decoct, wenn die Pferde nur mit Hafer gefüttert wurden, als viel geeigneteres Medium, als wenn sie mit Heu und Stroh gefüttert waren. Zuletzt sagte er: „Es ist unzweifelhaft, dass sowohl zur Keimung wie zur weiteren Entwickelung der Amöben ein stickstoffreiches Substrat unerlässlich ist.“ Meine Versuche ergaben völlig abweichende Resultate. Erstens ist das Vorhandensein von N zur Keimung nicht unerlässlich, denn die Sporen keimen in einer phosphathaltigen wässerigen Lösung irgend eines Kohlehydrates. Ferner ist eine N-reiche Flüssigkeit gerade das Medium, in dem D. m. nicht gedeiht, besonders wenn es, wie Brefeld's Culturen, mit mehreren Bacterienarten wächst, denn in solch einer Lösung entwickeln sich die Bacterien so kräftig, dass sie das Wachsthum von D. m. völlig verhindern — zweifellos durch die Anhäufung schädlicher Stoffwechselprodukte. Thatsächlich muss man bei Cultur des D. m. mit zahlreichen Bacterienarten vor Allem ein Medium wählen, das entweder N-arm ist oder doch N nur in schwer zersetzbaren Formen enthält. Gerade deshalb ist ja Maisextract das zur Züchtung von D. m. geeignetste flüssige Medium. Das Vorkommen von D. m. in der Natur auf Pferde-

1) Van Tieghem (9) hat auch Cysten bei D. m. beobachtet. Die Van Tieghem'schen sollen sehr charakteristisch sein, und durch das wiederholte Sprossen der Amöben entstehen. Solche Organe sind bei D. m. von keinem anderen Forscher beobachtet worden.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05174-0346-1

mist ist kein Beweis dafür, dass ein N-reiches Substrat nothwendig ist, denn die festen Excrete bestehen vorwiegend aus dem unverdauten Rest des Futters. Es ist viel wahrscheinlicher, dass sein Vorkommen hier eben daraus zu erklären ist, dass der N, ebenso wie auch die anderen Elemente, in schwer verdaulichen Combinationen vorkommt. Die Quantität spielt erst in zweiter Reihe eine Rolle. Was Brefeld's Versuche in den verschiedenen Pferdemistdecocten anlangt, so wuchs D. m. hier nicht mit einer Bacterienart, sondern mit unzähligen Arten; ausserdem sind die Bacterien in den verschiedenen Decocten wohl nicht immer dieselben gewesen. Der Unterschied zwischen den vorhandenen Bacterienarten, ganz abgesehen von irgend einem Qualitätsunterschied der Decocte, würde schon allein genügen, die Unterschiede im Wachsthum zu erklären. Da die verschiedenen Bacterienarten die Entwickelung von D. m. in sehr verschiedener Weise beeinflussen, so glaube ich allerdings, dass es sehr schwer sein werde, auf diese Art zu übereinstimmenden Resultaten zu gelangen.

Brefeld machte ferner Versuche mit reinen chemischen Salzen. In Mischungen von Harnstoff + phosphorsaurem Natrium + phosphorsaurem Ammonium, und Traubenzucker + phosphorsaurem Natrium + phosphorsaurem Ammonium erzielte er keine Keimung, aber in Hippursäure und Harnsäure (als harnsaures Kalium benutzt) keimte D. m. nicht nur, sondern trug sogar gut Frucht. Auch hier stimmen unsere Resultate nicht überein. So fand ich, wenn die beiden ersteren Mischungen neutralisirt wurden, dass D. m. in ihnen gut keimte. Da alles zum Keimen Erforderliche — Phosphat, organische Substanz und Sauerstoff — vorhanden ist, ist es schwer zu verstehen, weshalb Brefeld's Sporen darin nicht keimten. Man kann nur annehmen, dass die Lösungen vielleicht nicht neutralisirt waren, oder dass Stoffwechselprodukte der Bacterien sich so schnell angehäuft hatten, dass sie das Keimen verhinderten. Weder in Hippur- noch in Harnsäure haben D.-Sporen gekeimt, wenn sie mit Bact. fimbr. gesät wurden. Nach Hinzufügung von Phosphat werden, obgleich Keimung stattfindet, nur sehr wenig Sporangien gebildet; wird aber weiterhin Rohrzucker zugesetzt, so wird in beiden Mischungen eine Menge Sporangien gebildet. Daraus ergibt sich, dass Hippur- und Harnsäure N- aber keine C-Quellen sind. Der grosse Unterschied zwischen Brefeld's und meinen Resultaten betreffs der Bedingungen für Keimung und Entwickelung könnte es beinahe zweifelhaft erscheinen lassen, dass wir uns mit demselben Organismus beschäftigt haben. Allein der Umstand, dass wir D. m. mit verschiedenen Bacterien gezüchtet haben, wird zur

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05174-0347-7

Erklärung all dieser Unterschiede genügen — bis auf zwei, nämlich die betreffs der Bedeutung von Phosphaten und des N-haltigen Charakters des Mediums. Brefeld erwähnt überhaupt niemals die Nothwendigkeit von Phosphaten; meine Versuche dagegen haben es durchaus zweifellos gemacht, dass Phosphate für das Keimen der Sporen absolut nöthig sind. Brefeld, der D. m. mit mehreren Bacterienarten züchtete, behauptet, dass ein N-reiches Medium unerlässlich ist. Meine Experimente dagegen beweisen, dass gerade, wenn mehrere Arten da sind, eine N-reiche Lösung seinen Zweck als Medium für D. m. sehr leicht verfehlt. So ist experimentell bewiesen, dass, obgleich D. m. mit Bact. fimbr. allein gesät in vielen Medien gut Frucht trägt, doch wenn mehrere Bacterienarten gleichzeitig mitgesät sind, keine Sporangien gebildet werden.

Es ist festgestellt, dass das Wachsthum von D. m. auf Bacteriencolonien von einem ausgesprochenen Klarwerden der Colonien begleitet ist. Dies ist aber nicht auf allen Medien der Fall. So haben Colonien von Bact. fimbr. auf Gelatine einen gelblichen Schleim und wurden durch D. m. nicht durchsichtig gemacht.

Wir wissen, dass Myxomyceten, z. B. *Fuligo septicum,* Enzyme absondern und dass sie ihre Nahrung von Bacterien erhalten. Die bei den typischen Myxomyceten zuerst von Lister gemachten Beobachtungen über die Einführung von Bacterien und ihren Aufenthalt in der Vacuole legen wir nun dahin aus, dass ein Enzym in die Vacuolen abgesondert wird, daselbst die Bacterien verdaut, und dass die unverdauten Reste ausgeschieden werden. Die Absonderung eines Enzyms bei D. m. — nach der Vermuthung, die wir zur Erklärung der von ihm verursachten Zerstörung der Bacterien aufgestellt haben — ist also nicht wesentlich von dem für andere Myxomyceten angenommenen Vorgange verschieden. In einem Falle wird das Enzym in die Vacuole, im anderen wird es nach aussen abgesondert. Wir können den Fall von D. m. wahrscheinlich als einen phylogenetisch früheren und die übrigen Myxomyceten, die ihre Nahrung innerhalb der Vacuolen verdauen, als eine Uebergangsform zur Verdauung der höheren Thiere ansehen.

Ausser D. m. gibt es ein Protozoen — *Amoeba nitrophila* (Frosch 22), das sich durch extracelluläre Verdauung und zwar ebenfalls von Bacterien ernährt. Wie für D. m., sind auch für Amoeba nitrophila Bacterien zur Ernährung unerlässlich. Die Arbeit von Frosch ist mir erst bekannt geworden, nachdem die vorliegende Arbeit fertig war. Mit Ausnahme einiger höherer Pflanzen — der fleischfressenden —

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05174-0348-2

sind diese zwei die einzigen bekannten Organismen, die sich durch extracelluläre Verdauung ernähren. Es sind zahlreiche Arbeiten zwecks Erzielung der Reinzüchtung von Amöben (Protozoen) ausgeführt worden (Celli und Fiocca 23, 24, 25; Celli 26; Miller 27, 38; Schardinger 28, 29; Beyerinck 30, 31; Gorini 32; Casagrandi und Barbagalo 33; Tischutkin 34; Tsujitani 35; Ogata 36; Zaubitzer 37). Dreien dieser Forscher ist es gelungen — zuerst Beyerinck (30), nachher Tsujitani (35) und Zaubitzer (37) — Amöben mit einer Bacterienart zu isoliren; ausnahmslos aber ernähren sich die Amöben von dem vergesellschafteten Bacterium durch intracelluläre Verdauung derselben. Andererseits gibt es einige Myxomyceten und zahlreiche Amöben (Protozoen), die keine Bacterien auffressen und deren Ernährung bisher räthselhaft geblieben ist, da bei ihnen — ausser Amoeba nitrophila und D. m. — es bis jetzt nicht gelungen ist, sie bacterienfrei zu cultiviren oder zu beweisen, dass Bacterien für ihre Ernährung nöthig sind. Unwahrscheinlich ist es wohl nicht, dass manche dieser nicht-bacterienfressenden Myxomyceten und Amöben sich gerade durch die extracelluläre Verdauung von Bacterien ernähren.

Morphologische und Züchtungsmerkmale des Bacterium fimbriatum.

Morphologie. Aeusserst kleine ruhende Stäbchen, gelegentlich zu kurzen Fäden vereinigt. Sporen wurden nicht gefunden.

Gelatineplatte. Dem blossen Auge erschienen die Colonien hellgelb, kreisförmig, feucht und glänzend. Bei schwacher Vergrösserung ist der Rand einheitlich kreisförmig und das Centrum der Colonie ist braun und enthält zahlreiche Crystalle. Keine Verflüssigung.

Agarstrichcultur. Grau-weissliche, sich schnell ausbreitende Masse. Condenswasser klar.

Gelatinestichcultur. Massiges kreisrundes Wachsthum auf der Oberfläche. Auch das Wachsthum entlang des Nadelstiches ist gut und charakteristisch gefranst.

Kartoffel. Flache, glänzende, sich schnell ausbreitende, bräunliche Massen, besät mit schwarzen Pünktchen. Das Wachsthum ist von der Erzeugung grosser Quantitäten Ammoniak begleitet.

Milch. Schwaches Wachsthum, weder Gerinnen, noch Peptonisiren.

Traubenzuckerbouillon. Keine Gasbildung.

Bouillon. Kein Indol.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05174-0349-1

Temperatur. Wächst bei Zimmertemperatur, aber noch besser bei 37° C.

Färbung. Färbbar mit Gentianaviolett, aber nicht mit Methylenblau, Methylgrün oder Fuchsin. Entfärbt nach Gram's Methode.

Wenn man Migula's Classification folgt, gehört dieses Bacterium zur Familie der *Bacteriaceae,* Gattung *Bacterium* und die Classe, bei der keine Sporen beobachtet worden sind. Der specifische Name *„fimbriatum"* beschreibt das gefranste Wachsthum in Gelatinestichculturen.

Zum Schluss ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Professor Dr. Klebs sowohl für das gestellte Thema als auch für die Rathschläge und Anleitungen bei der Bearbeitung desselben meinen ergebensten Dank auszusprechen. Gleichzeitig spreche ich meinen besten Dank aus dem Herrn Privatdocent Dr. Küster für die mir geleistete Hilfe.

Botanisches Institut, Halle a./Saale,
Februar 1902.

Litteratur.[1])

1. Brefeld, Dictyostelium mucoroides, ein neuer Organismus aus der Verwandtschaft der Myxomyceten. Ab. d. Senk. Nat. Gesellschaft, Bd. VII, 1869.
2. — — Polysphondylium violaceum und Dictyostelium mucoroides nebst Bemerkungen zur Systematik der Schleimpilze. Unters. aus dem Gesammtgebiete der Mykologie. Heft VI, 1884.
3. Grimm, Ueber den Bau und die Entwickelungsgeschichte von Dictyostelium mucoroides (Bref.).
4. Nadson, Des cultures du Dictyostelium mucoroides (Bref.) et des cultures pures des Amibes en général. Extrait des Scripta Botonica, fasc. XV.
5. Klebs, Zur Physiologie der Fortpflanzung einiger Pilze. Theil I, Sporodinia grandis; Theil II, Saprolegnia mixta; Theil III, Allgemeine Betrachtungen.
*6. Van Tieghem, Troisième mémoire sur les Mucorinées. Ann. d. Sc. nat., sér. VI, t. 4, 1876.
*7. Klebs, Die Bedingungen der Fortpflanzung bei einigen Algen und Pilzen. Jena 1896.
8. Flügge, Die Mikroorganismen. 3. Auflage, Theil I, Leipzig 1896.
9. Van Tieghem, Sur quelques Myxomycetes à plasmode agrégé. Bulletin de la Société Botanique XXVII, 1880.
*10. Wortmann, Ein Beitrag zur Biologie der Mucorineen. Botan. Zeitung 1881.
*11. Errera, On the cause of physiological action at a distance. Ann. of Botany VI, 1892.
*12. Bonnier et Manguin, Recherches sur la respiration et transpiration des Champignons. Ann. d. Sc. nat. sér. VI, t. 17, 1884.

1) Die mit einem Sternchen bezeichnete Litteratur ist nach Klebs (5) citirt.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05174-0350-2

*13. Vines, The Influence of Light upon the Growth of unicellular Organs. Arb. Würzburger Institut, Bd. II, 1878.
*14. Stameroff, Zur Frage über den Einfluss des Lichtes auf das Wachsthum der Pflanzen. Flora 1897.
*15. Werner, Die Bedingungen der Conidienbildung bei einigen Pilzen. Frankfurt a. M. 1898, Inaug.-Diss., Basel.
*16. Marshall Ward, The Morph. Phys. of an aquatic Myxomycete, Stud. from the biol. Lab. of the Owens College, Vol. I, 1886.
17. — — Symbiosis. Annals of Botany, Vol. XIII, 1899.
18. Thomson, Outlines of Zoology.
*19. De Bary, Mucor stolonifer, ein Beitr. z. Morphol. u. Physiol. d. Pilze. Frankfurt 1866.
*20. Herbst, Ueber die Bedeutung der Reizphysiologie für die causale Auffassung etc. Biol. Centralblatt, Bd. XV, 1895.
21. Pfeffer, Pflanzenphysiologie. 2. Aufl., Bd. I, Leipzig 1897.
22. Frosch, Zur Frage der Reinzüchtung der Amöben. Centralbl. für Bacteriologie, I. Abth., Bd. XXI, 1897.
23. Celli und Fiocca, Beiträge zur Amöbenforschung. Centralbl. f. Bacteriologie, I. Abth., Bd. XV, 1894.
24. — — Ueber die Aetiologie der Dysenterie. Centralbl. f. Bacteriologie I. Abth., Bd. XVII, 1895.
25. — — Intorna alla biologia delle amebe. Referat in Centralbl. f. Bacteriologie, I. Abth., Bd. XXI, 1897.
26. Celli, Die Cultur der Amöben auf festem Substrate. Centralbl. f. Bacteriologie, I. Abth., Bd. XIX, 1896.
27. Miller, Ueber aseptische Protozoencultur und die dazu verwendeten Methoden. Centralbl. f. Bact., I. Abth., Bd. XVI, 1894.
28. Schardinger, Reincultur von Protozoen auf festen Nährböden. Centralbl. für Bacteriologie, I. Abth., Bd. XIX, 1896.
29. — — Protozoencultur. Nachtrag. Cent. f. Bact., I. Abth., Bd. XXII, 1897.
30. Beyerinck, Culturversuche mit Amöben auf festem Substrate. Centralbl. f. Bact., I. Abth., Bd. XIX, 1896.
31. — — Amöbencultur auf festen Substraten, Centralbl. f. Bact., I. Abth., Bd. XXI, 1897.
32. Gorini, Die Cultur der Amöben auf festem Substrate. Centr. f. Bact., I. Abth., Bd. XIX, 1896.
33. Casagrandi und Barbagallo, Ueber die Cultur von Amöben. Centralbl. f. Bact. I. Abth., Bd. XXI, 1897.
34. Tischutkin, Ueber Agaragarculturen einiger Algen und Amöben. Centralbl. f. Bact., II. Abth., Bd. XXII, 1897.
35. Tsujitani, Ueber die Reincultur der Amöben. Centralbl. f. Bact., Bd. XXIV, 1898.
36. Ogata, Ueber die Reincultur gewisser Protozoen (Infusorien) Centralbl. f. Bact., Bd. XIV, 1893.
37. Zaubitzer, Studien über eine dem Strohinfus entnommene Amöbe. Referat in Centralbl. f. Bacteriologie, I. Abth., Bd. XXX, 1900.
38. Miller, The Aseptic Cultivation of Mycetozoa. The Quarterly Journal of microscopical Science March 1898.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05174-0351-8