Ueber Geisseln, Reservestoffe, Kerne und Sporenbildung der Bacterien.

Von
Arthur Meyer.

(Hierzu Tafel XXI.)

Die Geisseln von Bacillus asterosporus.

Wie Migula (1898) nachwies, besitzt „Astasia asterospora" peritriche Begeisselung. Dass ich Unrichtiges bezüglich der Geisseln dieser Species behauptet habe, hat seinen Grund in einer Reihe von ungünstigen Zufälligkeiten. Mein damaliger Assistent hatte gerade Geisselpräparate für die Sammlung des Institutes zu fertigen, und da er sehr zahlreiche Geisselfärbungen gemacht hatte, so übernahm er die Herstellung einer grösseren Reihe von Geisselpräparaten von Astasia. Da die Präparate alle gleichartig ausfielen, und auch ein Präparat, welches ich zur Controlle nach Löffler's Methode gefärbt hatte, zufällig nichts anderes zeigte, so hatte ich keinen Grund, an der normalen Beschaffenheit der Präparate zu zweifeln.

Die Geisseln von Astasia lassen sich mit der Tanninmethode gut, besser aber noch nach Löffler's Methode färben. Ich wende bei Geisselfärbungen mit Vortheil das Eintrocknenlassen und Fixiren bei 40—45° an, bei Astasia vier Minuten langes Beizen mit Löffler's Tinte und Färbung mit Fuchsin, oder auch mit der von mir schon lange Zeit im Institut benutzten, vortrefflich wirkenden Lösung von 1 g Säureviolett 6B (Grübler) in 75 ccm Alkohol und 75 ccm Wasser.

Die geringen Kenntnisse, welche wir über die Entwickelungsgeschichte der Geisseln besitzen, veranlasste mich, nochmals mein Augenmerk auf diese Frage zu richten. Leider ist die Methode der Vergleichung zahlreicher gefärbter Geisselpräparate, auf denen sich immer nur wenige ganz intakte und dabei gut gelagerte, also einwandfreie Exemplare des gefärbten Spaltpilzes finden, ein recht unsicheres Mittel zur Ergründung der Entwickelungsgeschichte der Geisseln. Die einzigen, auch auf diese Methode gegründeten brauchbaren Angaben über eine peritriche Spaltpilzform macht Fischer (1895, S. 103). Was zuerst die Frage nach der Entwickelung der Geisseln bei der Sporenkeimung anbelangt, so fand Fischer bei B. subtilis, dass die zuerst in Reagensgläsern mit Heuinfus, welche

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05155-00432-1

mit Sporenmaterial beschickt waren, auftretenden Stäbchen nicht schwärmten, und dass sich an ihnen keine Geisseln durch die Färbung nachweisen liessen. Ungefähr $3^1/_4$ Stunden nach dem Eintritte der Keimung konnte Fischer die ersten Geisseln nachweisen. Die letzteren waren gegenüber denen älterer Culturen sehr zart und relativ kurz, aber anscheinend sehr zahlreich (Taf. II Fig. 3). Nach weiteren $2^1/_4$ Stunden fand er die Geisseln, wie er sagt (S. 108), schon so lang und so dick als sie nach weiteren 16 Stunden waren. Auf Taf. III Fig. 1 bildet Fischer jedoch noch bedeutend längere und dickere Geisseln ab. Er spricht sich nicht genau darüber aus, wie er seine Beobachtungen auffasst. Ueber die verschiedene Dicke der Geisseln sagt er Folgendes: „Im vorigen Kapitel wurde darauf hingewiesen, dass in älteren Culturen die Geisseln empfindlicher werden und während der Präparation leichter verquellen, leichter sich ablösen. So wird sich wohl auch die verschiedene Dicke der Geisseln $6^1/_2$—$7^1/_2$ Stunden nach der Sporenaussaat erklären." Mir scheint diese Erklärung nicht ganz zuzutreffen; denn nach der Abbildung der Geisseln ist doch die Längendifferenz zwischen den Geisseln jüngerer und älterer Culturen recht erheblich.

Auch bei B. asterosporus habe ich eine ganz ähnliche Beobachtung gemacht, wie sie hier für B. subtilis vorliegt. Es wurden abgekochte Sporen von B. asterosporus in grosser Menge auf Agar ausgesät, und wurde nach 9—10 Stunden, als die ersten Schwärmoidien auftraten, die Geisselfärbung vorgenommen. So stellte sich heraus, dass in allen Fällen die Geisseln der ersten Oidien relativ zart und kurz waren gegenüber denen älterer Culturen, deren Schwärmoidien sich schon oft getheilt hatten, also z. B. gegenüber den Schwärmoidien 20 Stunden alter Agarculturen. In Fig. 1 Taf. XXI (9 Stunden) und Fig. 2 (20 Stunden) sind zwei Präparate bei gleicher Vergrösserung dargestellt. Der ganze Eindruck der Farbe und Dichtigkeit war derart, dass ich nicht glaube, dass die verschiedene Dicke allein durch das verschiedene Quellungsvermögen hervorgerufen worden war; keinesfalls konnten die Längsunterschiede davon herrühren.

Ich halte es danach für wahrscheinlich, dass die ersten Nachkömmlinge der aus der Spore auskriechenden Schwärmoidien relativ kurze und dünne Geisseln bilden, dass die späteren Theilprodukte jedoch mehr und mehr dickere und längere Geisseln entwickeln. Wie Fischer bei B. subtilis, habe ich mich bei B. asterosporus und tumescens vergeblich bemüht, etwas Sicheres über die Neubildung von Geisseln an den in Theilung begriffenen Schwärmern zu sehen.

Universitätsbibliothek Regensburg urn:nbn:de:bvb:355-ubr05155-00433-7

Bei den zahlreichen Geisselfärbungen, welche in meinem Institute ausgeführt wurden, habe ich auch die Angaben Migula's im Auge behalten, dass man an manchen Geisselpräparaten deutlich erkennen könne, dass die Geisseln aus der Kapsel, der Gallerthülle, eines Spaltpilzes entspringen. Seite 57 erklärt sich Migula über diesen Punkt genauer und bildet in Fig. 1 Taf. II Geisselfärbungen von Bacillus subtilis ab, welche die Erscheinung illustriren. Auf S. 117 spricht er nochmals mit Sicherheit aus, dass die Geisseln der Bacterien nicht von dem in der Membran liegenden Protoplasten, sondern von der Membran aus ihren Ursprung nehmen, meint allerdings (S. 127), dass die Membran eine ganz eigenartige Beschaffenheit besässe. Da die von mir untersuchten Bacillus-Arten alle eine gut ausgebildete Membran besitzen, welche gegenüber den Pilzmembranen bisher keine Besonderheit gezeigt haben, da ferner alles das, was wir über Schwärmzellen der Pilze, Algen und Infusorien etc. wissen (siehe hierzu Toenniges, Sitzungsberichte der Gesellschaft zur Beförderung der gesammten Naturwissenschaften zu Marburg 1898, S. 128), dafür spricht, dass die Geisseln die Membranen stets durchbrechen, so erscheint die Ansicht Migula's von vorne herein recht wenig wahrscheinlich. Es ist nun ferner nicht schwierig, Präparate zu erhalten, wie sie Migula für Bacillus subtilis abgebildet hat, und zu erkennen, dass diese durch Verquellung und Verschmelzung der basalen Theile der Geisseln zu Stande kommen. Ich habe die Erscheinung besonders schön in allen Stadien bei Präparaten von Bacillus Zopfii beobachten können. Ein Exemplar mit einer solchen „Schleimhülle" habe ich in Fig. 3 Taf. XXI dargestellt. Auch Präparate von Bacillus cohaerens A. Meyer u. Gottheil (die Species soll später genau beschrieben werden), einer Form, welche einen sehr reichen, zarten und empfindlichen Geisselbehang besitzt, zeigten die Erscheinung in allen Stadien der Ausbildung.

Ich möchte hier zuletzt noch einige Worte über die Geisseln von B. tumescens Zopf sagen, über welchen Spaltpilz ich weiter unten noch mehr zu berichten habe. Wie schon Alfred Koch, von welchem das zu meiner Untersuchung benutzte Material stammt, in seiner für die damalige Zeit vortrefflichen Untersuchung (1888, S. 314) angibt, bilden sich in der Hängetropfencultur manchmal Schwärmoidien, welche sich fortschreitend bewegen. In Reagensglasculturen auf Dextrose enthaltendem Nähragar, welche bei 28° gehalten wurden, und bei denen ich von drei Minuten auf 100° erhitztem Sporenmaterial ausging, fand ich lebhaft schwärmende Kolonien nach 10 bis 16 Stunden in der Nähe des Niveaus des Kondenswassers. Die

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05155-00434-3

kaum sichtbaren Kolonien wurden mit einer Nadel abgehoben und in etwas Kondenswasser untersucht. Die sich mit mittlerer Schnelligkeit bewegenden Schwärmoidien bestehen aus relativ langen Zellen. Einzellige zweilange Oidien sind häufig, doch kommen nicht selten auch Schwärmoidien vor, welche aus zwei noch zusammenhängenden zweizelligen Stäbchen bestehen oder solche, die in der Entwickelung zu dieser Form begriffen sind (Fig. 48). Sehr eigenartig ist es, dass ich in Culturen, die in der feuchten Kammer auf Agar ausgeführt wurden und bei 28° 18 Stunden gestanden hatten, sehr lebhaft schwärmende Sporangien beobachten konnte.

Bei der Geisselfärbung stellte es sich heraus, dass der Spaltpilz an einem einzelligen, zweilangen Schwärmoidium ungefähr 8 bis 30 Geisseln trägt. Ein Schwärmoidium mit wenig Geisseln ist in Fig. 4 dargestellt.

Das als Reservestoff auftretende Fett der Bacterien, besonders das von Bacillus tumescens.

Körnchen und Tröpfchen, die in dem Protoplasten lebender Bacterien erkannt werden können, sind in der Litteratur oft erwähnt, aber, wenn wir von den Schwefelkörnchen absehen, ihrer Natur nach nicht untersucht worden. Wenn Fischer (1897*b*, S. 14) sagt: „Einlagerungen anderer Stoffe sind bis jetzt nicht beobachtet, abgesehen von glänzenden Fetttröpfchen, die zuweilen, besonders in alten Culturen, auftreten", so kann dort mit „Fetttröpfchen" nichts weiter gemeint sein als „stark lichtbrechende, rundliche Gebilde", denn über die chemische Natur dieser Körper war bisher nichts bekannt. Migula (1897, S. 89) sagt darüber: „Was nun die Körnchen anbetrifft, die man so häufig im Zellinhalte alter Bacterien antrifft, wenn die Culturen ein gewisses Alter erreicht haben, so dürfte nur so viel mit Sicherheit feststehen, dass sie aus einem Eiweisskörper bestehen, der in vieler Hinsicht dem Chromatin nahe steht." Und ferner schreibt er S. 90: „Ueber die Bedeutung der Körnchen lassen sich nur subjective Vermuthungen hegen; ich möchte sie als die ersten Anfänge einer Zellkernbildung betrachten."

Ich kann jetzt mit Sicherheit aussprechen, dass es sich in den meisten Fällen des Auftretens zahlreicher Körnchen im Bacteriencytoplasma um Tröpfchen von Fetten handelt, und dass die „Vacuolen", welche bei angetrockneten und gefärbten Bacterien erkannt werden können, häufig „Fettvacuolen" sind. Ich habe die Fettnatur der Tröpfchen oder Körnchen für B. tumescens sicher gestellt und mit

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05155-00435-9

Methylenblausudan auch für B. graveolens A. Meyer u. Gottheil, für B. ruminatus A. Meyer u. Gottheil und für B. mycoides, von welchen Species Herr Gottheil später eine genaue Beschreibung geben soll, sowie für einige andere Species ihre Fettnatur nachgewiesen. Bei B. asterosporus konnte ich kein Fett finden, habe jedoch den Spaltpilz nicht in variirte Culturverhältnisse gebracht. Die Körnchen, welche Migula in B. oxalaticus Zopf fand, werden vielleicht auch Fett sein, jedenfalls würde Migula gut thun, zur Klärung der Frage die Species noch einmal mit meiner Methode zu prüfen.

In den Zellen von B. tumescens sieht man, wie ich weiter unten genau beschreiben werde, in den verschiedenen Entwickelungszuständen des Pilzes, vorzüglich kurz vor der Sporenbildung, mehr oder weniger zahlreiche Tröpfchen oder Körnchen, wie sie in Fig. 48 Taf. XXI bei mittlerer, in den Fig. 16—22 bei tiefer Einstellung dargestellt sind. Da es mir darauf ankam, diese Tröpfchen von den Zellkernen sicher unterscheiden zu lernen, habe ich zuerst das Verhalten derselben gegen Farbstoffe und einige andere färbende Agentien geprüft. Die starke Contraction, welche die Bacterienzellen durch Alkohol erleiden, und das theilweise Undeutlichwerden der Protoplastenstruktur, welche selbst bei mit Formaldehyd gut fixirten Bacterien eintritt, wenn man sie langsam auf dem Objectträger antrocknen lässt, liessen mich von einer Färbung und Untersuchung trockenen Materials und Alkoholmaterials völlig absehen. Ich habe vielmehr versucht, Methoden zu finden, durch welche die Bestandteile der Bacterienprotoplasten gut fixirt und gut gefärbt werden könnten, ohne dass durch Schrumpfung eine Verkleinerung der an sich schon an der Grenze des mit den besten Linsen Erkennbaren stehenden Strukturen einträte.

Als Fixirungsmittel hat sich mir der Formaldehyd am besten bewährt. Ich verwende Formal des Handels (eine 40proc. Lösung von Formaldehyd). Die Farbstoffe wende ich in relativ grosser Verdünnung an und lasse sie mehr oder weniger lange auf das fixirte Material einwirken.

Die Frage, ob ein Farbstoff die Tröpfchen färbt oder nicht, ist oft recht schwierig zu entscheiden, da die Tröpfchen bei hoher Einstellung stark glänzen, bei tiefer, als relativ stark lichtbrechende Körper, selbstverständlich dunkel gefärbt erscheinen. Man muss die Blende weit öffnen, bei mittlerer Einstellung beobachten und sich hüten, das Durchschimmern einer Farbe des gefärbten Cytoplasmas für eine Färbung der Tröpfchen anzusehen. Auch muss man sehr sorgfältig die Concentration der Farbstofflösungen abstimmen, denn

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05155-00436-4

färben diese das Cytoplasma zu stark, so werden die Färbungen der Tröpfchen leicht verdeckt, färben sie das Cytoplasma zu wenig, so täuscht man sich leicht bei tiefer Einstellung über die Färbung der Tröpfchen.

Die mit einer Reihe von Färbemitteln angestellten Versuche zeigten zuerst, dass die Tröpfchen sich gegen solche Farbstoffe, welche Kerne und Cytoplasma intensiv zu färben vermögen, ähnlich verhalten wie diese Organe der Protoplasten. In den Vordergrund sind in dieser Beziehung Pikrocarmin (nach Mayer) und Boraxcarmin zu stellen. Beide Farbstoffe färben die Tröpfchen deutlich roth; sie färben aber auch, wie ich fand, fette Oele. Ebenso färbt Jodjodkalium die Tröpfchen, wie Cytoplasma und Kerne, braun und zwar bei vorsichtigem Zusatze von Jodjodkalium früher als das Cytoplasma. Uebrigens fixirt Jod zugleich, doch recht unvollkommen, so dass die Tröpfchen bald unregelmässig werden.

Einige andere Farbstoffe, welche Cytoplasma und Kerne färben, lassen dagegen die Tröpfchen völlig ungefärbt. Dahin gehört zuerst das reine Methylenblau. Zur Herstellung der von mir benutzten Methylenblaulösung wird 1 Vol. einer gesättigten Lösung des Farbstoffes in 95proc. Alkohol mit 40 Vol. destillirtem Wasser gemischt. Mit dieser Lösung färben sich die Tropfen fixirter und lebender Bacterienzellen nicht, die Membranen kaum, wohl aber das Cytoplasma, so dass die farblosen Tröpfchen scharf hervortreten. Lässt man die fixirten Bacterien mit der Farbstofflösung bei gewöhnlicher Temperatur auf dem Objectträger eintrocknen, und bringt man dann etwas Canadabalsam und ein Deckglas auf, so kann man die Tropfen als helle Stellen, „Vacuolen", in den angetrockneten Bacterien erkennen. Aehnliches wie Methylenblau leistet reines Methylviolett. Auch die zur Kernfärbung von mir benutzte Formolfuchsinlösung verhält sich so, färbt jedoch die Membran oft zu intensiv. Methylgrün (cryst. I bläul. Friedr. Bayer) färbt die Tröpfchen eine Spur, das Cytoplasma viel weniger als Methylenblau, auch Safranin (extra G. Aktg. f. Anilf. Berlin) verhält sich ähnlich wie Methylgrün, färbt jedoch das Cytoplasma stärker als letzteres.

Einige Farbstoffe, welche man in der Technik zur Färbung von Fetten benutzt hat, färben die Tröpfchen von B. tumescens sehr intensiv. In erster Linie ist hier das Dimethylamidoazobenzol (wir wollen den Farbstoff der Kürze wegen in dieser Arbeit als „Gelb" bezeichnen) zu nennen, welches in einer Lösung von 0,4 g auf 100 g 95proc. Alkohol benutzt wird. Man mischt einen Tropfen dieser

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05155-00437-0

Lösung mit einem Tropfen Wasser und fügt eine Oese voll des Gemisches sofort zu den in einem Tropfen Wasser vertheilten, lebenden Bacterien oder zu fixirtem Materiale. Man kann auch eine Spur der spirituösen Lösung direct zu den im Wasser liegenden Bacterien bringen. Die Lösung färbt das Cytoplasma nicht; die Tröpfchen werden intensiv gelb gefärbt. Zweitens ist Sudan III (von Grübler u. Co., Leipzig; Amidoazobenzolazo-β-naphtol) in einer Lösung von 0,1 in 20ccm 95proc. Alkohol in gleicher Weise zu verwenden. Es färbt Cytoplasma kaum, die Tröpfchen stark roth. Alkanninlösung (Alkannawurzelrinde 1 Th. mit 5 Th. 50proc. Alkohol ausgezogen und mit einer Spur Essigsäure angesäuert) färbt die Tröpfchen ebenfalls sehr gut, scheidet aber beim Färben störende Tröpfchen aus, während die Ausscheidung der beiden vorhergenannten Farbstoffe krystallinisch ist. Cyanin färbt das Cytoplasma zu stark.

Andere Farbstoffe, welche ich bezüglich ihrer Wirkung auf B. tumescens untersuchte, dringen entweder nicht oder schwierig (bei meiner Methode) in die Stäbchen ein, so z. B. Sprittblau, oder färben Fett und Plasma kaum (so z. B. Eosin, Säurefuchsin, Coccin) oder alles gleichmässig schwach, wie z. B. Neutralroth. Délafield'sches Hämatoxylin färbt die relativ dicke Bacteriemembran sehr intensiv und dringt sehr schwierig ein.

Die Methylenblausudanmethode und die Methylenblaugelbmethode zur Nachweisung der Fette. Da das Methylenblau den Protoplasten intensiv, das Fett nicht färbt, Sudan sich aber umgekehrt verhält, so eignen sich die beiden Farbstoffe zusammen sehr gut zur Nachweisung des Bacterienfettes. Die Doppelfärbung macht zugleich noch manche andere Verhältnisse deutlich sichtbar. Man bringt zur Ausführung der Methylenblausudanfärbung ein Tröpfchen Formal auf den Objectträger, setzt eine Oese voll des Bacterienmaterials hinzu, vermischt sorgfältig und lässt das Formal fünf Minuten einwirken. Hierauf fügt man einen Tropfen der Methylenblaulösung hinzu, rührt um und lässt 10 Minuten stehen; dann setzt man eine Oese voll einer frisch bereiteten Mischung von einem Tropfen Sudanlösung und einem Tropfen Wasser hinzu. Es färbt sich jetzt das Cytoplasma, ev. auch der Zellkern blau, das Fett roth. Im Uebrigen beobachtet man bei B. tumescens oft eine schwache Rothfärbung der Membran und in fettfreien Zellen oft etwas heller erscheinende, ungefärbte Zellsaftvacuolen. Da sich die Sporenmembran auch hellroth färbt, könnten ungeübte Beobachter die gefärbten Sporen ev. mit Fetttropfen verwechseln. Statt Sudan kann man Gelb anwenden.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05155-00438-6

Fixirt man nicht, und wendet man statt der Sudanlösung die Gelblösung als Zusatz zu einer mit etwas Wasser verdünnten, lebenden Bacterienmasse an, so erhält man meist vorzügliche Bilder, da die Färbung des Cytoplasmas durch Gelb ganz unterbleibt. Auch hierbei färben sich die Membranen der reifen Sporen etwas durch den Fettfarbstoff.

Ebenso wie das Verhalten der Tröpfchen gegen Fette färbende Farbstoffe die Vermuthung nahe legt, dass die Tröpfchen Fett seien, spricht auch das Verhalten der Tröpfchen gegen Eisessig und Kalilauge für diese Ansicht.

Eisessig löst die Tröpfchen, wie er manche Fette auch löst. Legt man tröpfchenhaltige Oidien direct in Eisessig, so verschwinden die Tröpfchen, und das Cytoplasma wird vacuolig-schaumig (Fig. 54 Taf. XXI). Härtet man die tröpfchenhaltigen Stäbchen mit Formol, färbt mit Alkannin das Fett und fügt dann Eisessig hinzu, so verschwinden die Tröpfchen völlig, und es liegen im röthlich gefärbten Cytoplasma rundliche Vacuolen. Wenn man etwas von der Kolonie des Bacillus mit wenig Eisessig 4 Stunden liegen lässt, dann mit Wasser verdünnt, mit Ammoniak neutralisirt und mit Methylenblau färbt, so überzeugt man sich mit Sicherheit, dass alle Tröpfchen gelöst sind, dafür aber Vacuolen vorhanden sind. Es stimmt diese Erfahrung mit der Thatsache, dass Eisessig das aus den Bacterien hergestellte Fett löst.

Mit Alkohol und Chloroform kann man leider an die Fetttropfen nicht gelangen, da absoluter Alkohol, Chloroform und viele andere Lösungsmittel der Fette von der Membran des B. tumescens nicht hindurch gelassen werden, was mit der schleimigen Beschaffenheit der äusseren Lamellen der dicken Zellmembran zusammenhängen mag. Streicht man frisches Bacterienmaterial dünn auf ein Deckglas, wirft man dieses, so lange die Bacterien noch feucht sind, in absoluten Alkohol und lässt man es 24 Stunden darin liegen, so findet man dann das Fett noch in den Bacterien, ebenso, wenn man das aus dem Alkohol genommene Deckglas 24 Stunden in siedendem Chloroform erhitzt, dann wieder in Alkohol, schliesslich in Wasser bringt. Die Tropfen sind dann nur zu unregelmässigen Massen zusammengeflossen.

Um einen weiteren Aufschluss über die Natur der Tröpfchensubstanz zu erhalten, wurden grössere Mengen (1 g Trockensubstanz) von Bacterien zur rechten Zeit, d. h. in fettreichem Zustande, gesammelt, erst feucht mit Quarzsand einen Tag zerrieben, dann getrocknet und nochmals mit Quarzsand einen Tag lang im Mörser

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05155-00439-4

zerrieben, um die Bacterienleiber zu öffnen, schliesslich im Extractionsapparat mit Aether erschöpft. Das gelbliche, fettartige Extract wurde mit kaltem Petroleumbenzin behandelt. Es blieb ein weicher, wachsartig riechender, gelblicher Rückstand, welcher etwas weniger als die Hälfte des Extractes betrug und in Chloroform löslich war. Die Benzinlösung hinterliess nach dem Verdampfen einen weichen, durchscheinenden Rückstand, welcher auf Papier einen Fettflecken gab. Die ungefähr vier Tropfen des Fettes wurden mit 20 Tropfen Alkohol und 10 Tropfen 20proc. Kalilauge am Rückflusskühler erhitzt. Nach etwa einer Stunde war die Verseifung vollendet, so dass sich, nach dem Verdampfen des Alkohols, die Flüssigkeit bei Zusatz von 5 ccm Wasser kaum trübte. Die Seifenlösung schäumte stark beim Schütteln. Nach Zusatz von Schwefelsäure schieden sich relativ reichliche Mengen von Fettsäuren aus. Nach dem Abfiltriren, Lösen in Aether und Verdampfen des Aethers blieb die Fettsäure als schwach gelbliche, ölige Masse zurück, in welcher sich reichlich Drusen doppelbrechender Krystalle ausgeschieden hatten. Es wurde auch der Versuch gemacht, Glycerin in der von den Fettsäuren abfiltrirten Flüssigkeit nachzuweisen. Das Filtrat wurde mit etwas Magnesiumcarbonat eingedampft, der Rückstand mit Aetheralkohol ausgezogen, der Auszug filtrirt und im Reagensglase verdampft. Es blieb eine Spur einer farblosen Flüssigkeit im Reagensglase zurück, die höchstens zu einer Reaction auf Glycerin ausreichen konnte. Da ein Vorversuch gezeigt hatte, dass man mittelst der Glycereïnreaction das aus zwei Tropfen Olivenöl hergestellte Glycerin erkennen konnte, wurde letztere Reaction angewandt. Es wurde zu den Spuren des Rückstandes eine gleiche Menge Phenol und eine gleiche Menge conc. Schwefelsäure hinzugemischt, dann wurde das Gemisch im Paraffinbade auf 120° erhitzt. Nach dem Erkalten der Schmelze wurde etwas Wasser und sehr wenig Ammoniak hinzugegeben. Statt der erwarteten röthlichen Färbung erhielt ich eine gelbliche, die wohl von Verunreinigungen herrührte, und welche die rothe Farbe sicher verdecken musste, wenn sie auch entstanden wäre. Wenn nun auch die Glycerinreaction nicht gelang, so war das Verhalten des mit Petroleumbenzin ausgezogenen Körpers doch im Allgemeinen ein solches, dass man denselben als Fett (vielleicht gemischt mit Lecithin?) ansprechen darf.

Wenn nun die Tröpfchen ein Fett sind, so war anzunehmen, dass sie die Rolle eines Reservestoffes spielen, und in der That sprechen für diese Annahme die folgenden Thatsachen. Bringt man die Bacterien in gute Ernährungsbedingungen, so speichern sie nach

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05155-00440-5

der Keimung mehr und mehr Fett auf und verbrauchen es bei der Sporenbildung meist vollständig. Wenn man dextrosehaltigen Nähragar mit abgebrühtem Sporenmaterial impft und die Entwickelung der Sporen bei 28° vor sich gehen lässt, so findet man nach neun Stunden Zellfäden aus mehr oder weniger zahlreichen Stäbchen bestehend, deren Protoplast sich mit Methylenblausudan nur blau färbt und nur einige Zellsaftvacuolen, als etwas hellere Stellen, erkennen lässt. Aber schon nach 12 Stunden sieht man in vielen Schwärmoidien des Kondenswassers einzelne oder auch schon zahlreiche Tröpfchen, ähnlich wie es in Fig. 49 Taf. XXI dargestellt ist. Untersucht man ruhende Oidien von den oberen, trockenen Stellen derselben Cultur, so sieht man schon eine sehr reichliche Speicherung des Fettes, so dass bei schwächerer Vergrösserung einzelne Tropfen kaum mehr erkannt werden können, man aber bei genauer Betrachtung der gefärbten Bacterien sieht, dass noch relativ breite, blaue Plasmalamellen zwischen den grossen, rothen Fetttropfen liegen. Die Fettspeicherung schreitet fort bis zur Anlage der Sporen im Sporangium, so dass zuletzt die blauen Lamellen gegen das rothe Fett ganz zurücktreten können (Fig. 50 Taf. XXI). Bei der weiteren Ausbildung der Sporen nimmt auch in gut ernährten Sporangien die Menge des Fettes mehr und mehr ab. Bei sehr grossem Reichthum an Fett können bis zur Reife der Sporen noch Reste davon im Cytoplasma liegen bleiben, aber meist ist das Fett schon vor der Sporenreife verbraucht. In Fig. 51 Taf. XXI ist das Fett verschwunden, die Membran der Spore noch nicht völlig fertig gestellt; in Fig. 52 ist die Spore vollendet, das Fett verbraucht, blaues Cytoplasma noch zu erkennen.

Es ist leicht verständlich, dass unter ungünstigen Ernährungsbedingungen die Aufspeicherung des Fettes eine verhältnissmässig wenig ausgiebige ist. Wenn man abgekochtes Sporenmaterial mit einem kleinen Tröpfchen Nährlösung oder Nähragar in die feuchte Kammer bringt und bei 28° zur Entwickelung kommen lässt, so speichern die Bacterien viel weniger, oft sehr geringe Mengen von Fett. Man kann auch die Culturen aushungern, wenn man etwas einer fettreichen Cultur auf nährstofffreies Agarsubstrat bringt und bei 28° stehen lässt; die Stäbchen werden dann fettärmer. Zur Erzeugung des Fettes braucht B. tumescens keine Kohlenhydrate, denn mässige Mengen Fett bildet der Pilz auch, wenn man abgekochtes Sporenmaterial in einer 1proc. Asparaginlösung wachsen lässt. In den Sporen selbst ist keine Spur Fett enthalten, denn man sieht kein Fett aus den Sporen austreten, wenn man Sporen in Methylenblau-

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05155-00441-1

sudan zerquetscht. Der austretende Protoplast der Spore färbt sich dabei rein blau (Fig. 55 Taf. XXI).

Nachdem wir gesehen haben, dass die Bacterien Fett als Reservestoffe speichern, ist es für uns nicht ohne Interesse, dass auch aus den Tuberkelbacterien eine Fettsäuren enthaltende Substanz erhalten wurde. Schon 1891 fand Hammerschlag, dass Tubekelbacterien sehr viel Trockensubstanz an Aether abgeben. Später haben sich Klebs, Unna, de Schweinitz und Dorset, R. Koch, Aronson, Ruppel mit den durch Alkohol und Aether extrahirbaren Substanzen der Tuberkelculturen beschäftigt. de Schweinitz und Dorset (1896) erhielten 37 % „Fett". In 3,59 des Fettes fanden sie 0,059 flüchtige Fettsäuren; die Hauptmenge der Säuren war fest, und drei constante Fractionen derselben schmolzen bei 43°, 85° und 102° C. Koch (1897) sagt, dass er mittelst Alkohols und mittelst Aethers direct je eine „Fettsäure" aus den Bacterien ausgezogen habe. Aronson gibt an, dass sein mittelst Aetheralkohols extrahirtes Fett aus 17 % freier Fettsäure und 83 % von Fettsäureestern eines in Wasser unlöslichen Alkohols bestanden habe, welcher von Cholesterin verschieden gewesen sei. Aronson nennt deshalb den Ester ein Wachs.

Zuletzt hat Ruppel (1898) eine kurze Angabe über das „Fett" des Tuberkelspaltpilzes gemacht. Er sagt: „Nach meinen Beobachtungen sind es drei Kategorien fettähnlicher Substanzen, zu welchen man durch successive Extraction mit kaltem Alkohol, heissem Alkohol und schliesslich mit Aether gelangte. Kalter Alkohol extrahirt etwa 8 % vom Gesammtgewichte der Bacillensubstanz und nimmt während der Extraction eine intensive Rothfärbung an. — Das Alkoholextract zeigt nach dem Verdunsten des Alkols eine schmierige Consistenz und enthält eine nicht unerhebliche Menge freier Fettsäuren. Hat man durch die übliche Methode, d. h. durch Behandlung der schmierigen Masse mit Sodalösung und Aether, die freien Fettsäuren entfernt, so erhält man nach dem Verdunsten des Aethers eine Fettmasse, deren Schmelzpunkt zwischen 55 und 60° liegt. Diese Fettmasse lässt sich leicht verseifen und liefert hierbei neben freien Fettsäuren einen in Aether löslichen Körper, welchen Aronson mit Recht als einen höheren Alkohol bezeichnet hat.

„Heisser Alkohol extrahirt aus den mit Alkohol in der Kälte erschöpften Bacillen weitere Wachsmassen, welche sich beim Erkalten des Lösungsmittels als völlig farblose Körper abscheiden. — Die Masse beginnt sich bei 65° zu verflüssigen, ohne, selbst beim Er-

Universitätsbibliothek Regensburg urn:nbn:de:bvb:355-ubr05155-00442-7

hitzen auf 200°, ein völlig klares Aussehen zu erlangen. Diese durch heissen Alkohol extrahirten Verbindungen sind nur sehr schwierig zu verseifen, scheinen aber auch aus Fettsäureestern höherer Alkohole zu bestehen.

„Das Aetherextract schliesslich liefert wiederum Substanzen, deren Schmelzpunkt bei 65—70° liegt, und welche beim Erhitzen schon durch den Geruch ihren dem Bienenwachs ähnlichen Charakter zu erkennen geben. Die Menge der durch Aether und Alkohol extrahirten Bestandtheile betrug 8—26% des Trockengewichts der Bacterien."

Durch die Freundlichkeit des Herrn Dr. Ruppel erhielt ich eine kleine Menge des durch Aether extrahirten, farblosen „Fettes", dessen oberflächliche Prüfung mir zeigen sollte, wie weit es von dem von mir erhaltenen Fette abweiche. Tuberkelbacterienfett löste sich in Chloroform nicht völlig, wahrscheinlich enthielt es noch Reste der zerriebenen Zellleiber, deren Vorhandensein wohl auch die Färbbarkeit verschiedener mikroskopischer Partikelchen mit Farbstoffen und so auch die leichte Färbbarkeit des Fettes theilweise bedingten. Das mit Chloroform gereinigte Fett löste sich etwas trübe in Petroleumbenzin und verhielt sich bei der Verseifung so, wie es nach Aronson's Angaben zu erwarten war. Glycerin konnte ich mit Sicherheit nicht nachweisen, erhielt jedoch anscheinend eine schwache, undeutliche Akroleïnreaction. Herr Dr. Ruppel hatte die Freundlichkeit, 10 g des durch Alkohol und Aether extrahirten Fettes auf Glycerin zu verarbeiten und mit diesem die Glycereïnreaction anzustellen. Dieselbe gelang sehr gut. So ist also Glycerin in dem Bacterienfette nachgewiesen. Nur scheint es mir noch nicht sicher gestellt, dass das Extract frei von freiem Glycerin war, welches immerhin aus dem glycerinhaltigen Nährsubstrate in die Bacterienmasse und so in das Extract gelangen könnte.

Welche Bedeutung diese Fette der Tuberkelbacterien für die Biologie dieser Pflanzen besitzen, und wo sie in der Zelle liegen, ob sie als Reservestoffe in dem Cytoplasma liegen oder ob sie als Excrete ausgeschieden werden oder auch theilweise oder ganz in der Membran sitzen, weiss man bis jetzt nicht.

Nicht alle Bacterien führen Fett als Reservestoffe. Von den Reservestoffen, welche in den Vacuolen der fettfreien Bacterien auftreten, sind bisher nur mit Jod färbbare Kohlehydrate bekannt, über welche ich in dem Folgenden einiges mittheilen will.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05155-00443-3

Die mit Jod färbbaren Polysaccharide, welche als Reservestoffe in den Bacterienzellen auftreten.

Das biologische Verhalten des Fettes von B. tumescens hat mit dem bekannten Verhalten des sich mit Jod blau färbenden Körpers der Spaltpilze Aehnlichkeit, und schien es mir deshalb von Interesse, dieses Kohlehydrat zu untersuchen und zu besprechen. Als Versuchsobject züchtete ich einen Granulobacter nach der Vorschrift Beijerinck's (1893, S. 10), unter Anwendung von Gerste. Die in dem Butylansatze entwickelten Bacterien hatten einen einheitlichen Charakter; es schien fast eine Reincultur vorzuliegen, als die Gährung sehr lebhaft war. Welche Granulobacterart vorlag, kann ich nicht genau sagen, da alle bisher gegebenen Beschreibungen der Arten viel zu unvollständig sind. Meine Form stimmte jedoch mit der Beschreibung, welche Beijerinck von seinem G. butylicum gibt.

In der Cultur fanden sich schlanke Stäbchen (Fig. 24 Taf. XXI), stärker angeschwollene, aber meist cylindrische oder wenig spindelförmige, sich zur Sporenbildung vorbereitende Stäbchen (Fig. 26 Taf. XXI) oder, selten, cylindrische, meist etwas spindelförmig gestaltete Sporangien mit Sporen (Fig. 27 Taf. XXI). Verdünnte ich etwas von der gährenden Masse im Reagensglase, so fand ich die Sporangien in lebhafter Schwärmbewegung. Die schlanken Stäbchen färbten sich meist mit Jod gelbbraun, nur in seltenen Fällen liessen sich einige kleine, rothbraune Massen in ihnen auffinden (Fig. 24 Taf. XXI). Wenn sich die Sporangien zur Sporenbildung anschicken, so tritt nach der Färbung mit Jod, an der „Spitze" der Sporangien eine relativ helle, gelbe Stelle hervor, welche sich also gegen Jod so verhält wie die später zu beschreibende fettfreie Stelle der Sporangien von B. tumescens, und sieht man direct unter derselben, sich mehr oder weniger weit nach der Basis zu erstreckend, blaue oder braunrothe Massen liegen, welche also an der Basis des Sporangiums oft deutlich von Cytoplasma rings herum umgeben erscheinen (Fig. 25 u. 26 Taf. XXI), selten scheinbar den ganzen unteren Theil des Sporangiums erfüllen. Die Art der Färbung, welche der Reservestoff annimmt, hängt, wie ich fand, in erster Linie von der Menge des zugeführten Jods ab. Setzt man nur so viel einer sehr verdünnten Jodjodkaliumlösung zu dem Präparate hinzu, dass die Flüssigkeit unter dem Deckglase für das blosse Auge noch farblos erscheint, so findet man die Massen mehr oder weniger dunkel blauviolett gefärbt (Fig. 26 Taf. XXI). Man erkennt dann auch, dass sie nicht homogen sind, sondern aus sehr kleinen, unregelmässigen Massen, „Körnchen", bestehen, die nur bei

Universitätsbibliothek Regensburg urn:nbn:de:bvb:355-ubr05155-00444-8

dichter Lagerung den Eindruck der homogenen Masse machen. Sie sind in das Cytoplasma des Sporangiums eingebettet, wie man besonders gut an der Spitze der Sporangien sehen kann, wenn dort noch Cytoplasma frei gelassen ist. Es liegen also hier statt der Fetttropfen körnige Massen des Kohlenhydrates im Cytoplasma. Setzt man so viel Jodjodkaliumlösung zu, dass die Flüssigkeit unter dem Deckglase braun gefärbt erscheint, so nimmt der Reservestoff eine intensiv braunrothe Farbe an, und die ganze Masse erscheint, infolge der höheren Intensität der Färbung und der Aehnlichkeit zwischen der Färbung des Cytoplasmas und des Reservestoffes, homogener. Wenn die Sporen reif sind, ist der Reservestoff meist verschwunden (Fig. 29 Taf. XXI), und dann erscheint das basale, trophische Cytoplasma unregelmässig kleinvacuolig und in der Peripherie meist dichter.

Dass der Reservestoff ein glycogen- oder stärkeähnliches Kohlenhydrat ist, lässt sich durch die folgenden Reactionen beweisen: Erhitzte man eine Kleinigkeit der mit Wasser verdünnten Bacterienmasse, die mit Jod gefärbt war, im Reagensglase, so verschwand die Färbung, nur die Jodfärbung des Wassers blieb übrig. Brachte man die heisse Masse unter das Mikroskop, auf einen warmen Objectträger, so sah man, dass die Sporangien entfärbt waren, aber beim Erkalten die blaue oder rothbraune Farbe wieder annahm. Erhitzte man die Sporangien im Reagensglase mit 5 ccm Wasser und zwei Tropfen conc. Schwefelsäure drei Minuten zum Sieden, so zeigten sie dann mit Jod keine Blau- oder Rothfärbung mehr. An den Stellen, an denen das Kohlenhydrat gelegen hatte, waren die Cytoplasmamassen weniger dicht, und um die Sporenanlagen hatte sich häufig ein heller Hof gebildet. Liess man einen frischen, mit Chloroform oder Toluol versetzten Malzauszug bei 28° 24 Stunden auf die Sporangien einwirken, so war das Kohlenhydrat ebenfalls herausgelöst. Es spricht die Schnelligkeit der Lösung dafür, dass das Kohlenhydrat in einer zähflüssigen Lösung vorliegt. Die Stelle des Protoplasten, in welcher das Kohlenhydrat gelegen hatte, erschien nach der Lösung des letzteren feinvacuolig und feinkörnig. Die feinen Vacuolen waren wohl sicher die leeren Behälter der Kohlenhydratkörnchen (Fig. 27 Taf. XXI). Das Cytoplasma des fertilen Abschnittes des Sporangiums, welches die Spore umgab; erschien dicht und fast völlig homogen (Fig. 27 Taf. XXI). Wie Diastase wirkte auch Speichel bei 28° lösend auf das Kohlenhydrat ein. Der Speichel griff jedoch das Cytoplasma etwas stärker an als die Diastase (Fig. 30 u. 31 Taf. XXI). Wenn die Körnchen mit

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05155-00445-4

Jod gefärbt worden waren, so lösten sie sich nicht in Wasser. Ich sah in einem durch Druck geöffneten Sporangium die gefärbten Körnchen in lebhafter Molekularbewegung, ohne dass sie sich lösten.

Um zu sehen, ob andere Species vielleicht eine reine und auch bei grösserem Jodzusatze bleibende Blaufärbung gäben, wurde ein dem Ansatz mit Gerste gleicher Ansatz mit Reis hergestellt. Als Gährung eintrat, waltete Buttersäure vor und die Sporen der neuen Granulobacterart waren grösser als die der mit Gerste gewonnenen Species. Die neue Species verhielt sich jedoch gegen Jod wie die vorige.

Die Entdeckung, dass sich der Reservestoff der Granulobacter mit wenig Jod blau, mit mehr Jod rothbraun färbt, liess es mir wahrscheinlich erscheinen, dass es auch Spaltpilze gäbe, deren Kohlenhydrat sich mit Jodjodkalium unter allen Umständen rothbraun färbe. Ich fand einen solchen Spaltpilz in B. subtilis. Wenn man Dextroseasparaginnährlösung mit etwas von einer frischen Kahmhaut von B. subtilis impft, so entwickelt sich bei 28° bald eine Kahmhaut, welche zuerst dünn, nicht weisslich und nicht zähe, sondern mehr durchscheinend und schleimig fadenziehend ist, eine gesunde, junge Kahmhaut, in welcher die Sporangienbildung in vollem Gange ist, ohne dass schon fertige Sporen und absterbende Stäbchen vorliegen. In den Sporangien dieser Kahmhaut häuften sich nun infolge der guten Ernährungsverhältnisse relativ viel Reservestoffe an. Ohne Reagentien sieht man von den Reservestoffen nichts, auch Safranin sowie Rutheniumroth, welches das Protoplasma und die unbehäuteten Sporen intensiv färbt, üben keinen Einfluss auf den Reservestoff aus. Wenn man aber mit Jod gut gesättigte Jodlösung (1 Jodcalium, 2 Jod, 200 Wasser) zu einem Präparate hinzufügt, so tritt der Reservestoff mit intensiv rothbrauner Farbe hervor und zeigt dann ähnliche Lagerungen wie die in Fig. 23 Taf. XXI dargestellten. Auch mit Jodglycerin (Jodkalium 0,50, Jod 1, Wasser 10, Glycerin 90) tritt die Reaction schön ein.

Der Stoff löst sich nicht, wenn man die Bacterien mit Wasser kocht. Man könnte meinen, es sei dieses ein directer Beweis dafür, dass das Kohlenhydrat kein Glycogen sei, da z. B. Barforth (Vergleichende histochemische Untersuchungen über das Glycogen, Archiv f. mikr. Anatomie 1885 S. 259) angibt, dass das Glycogen der Zellen in allen wasser- und glycerinhaltigen Flüssigkeiten gelöst werde. Das ist richtig, aber aus den Bacterienzellen würde Glycogen dennoch nicht austreten, wenn man sie mit Wasser kochen würde. Ich habe glycogenreiche Schnitte durch die Trüffel in einem mit Baumwolle

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05155-00446-0

verschlossenen Reagensglase lange gekocht und dann 12 Tage stehen gelassen und konnte hierauf noch reichliche Mengen des Kohlenhydrats in allen Zellen finden, weil die Zellmembran den Austritt des Glycogens verhindert.

Setzt man zu den gekochten Bacterien Speichel, so reagiren sie anfangs noch mit Jod, aber nach 12 Stunden ist das Kohlenhydrat gelöst und hinterlässt eine mit Jod farblos bleibende Vacuole im Cytoplasma. Auch durch Kochen mit verdünnter Schwefelsäure lässt sich das Kohlenhydrat leicht lösen.

Fermi (Centralblatt für Bacteriologie 1890 S. 469) hat zwar schon nachgewiesen, dass B. subtilis ein diastatisches Ferment entwickelt. Da aber die Frage nach dem Vorhandensein des letzteren weiteres Interesse durch die Constatirung des Vorkommens eines Polysaccharides gewonnen hat, habe ich doch die Prüfung meines Spaltpilzes auf Diastase vorgenommen. Es stellte sich heraus, dass er ziemlich reichlich stärkespaltendes Enzym producirte.

Nachdem ich im Vorstehenden die von mir angestellten Beobachtungen über die mit Jod färbbaren Polysaccharide mitgetheilt habe, will ich zuletzt das bisher Bekannte und das von mir Gefundene einer allgemeinen Besprechung unterziehen.

* * *

Es ist lange bekannt, dasss es Bacterien gibt, deren Zellinhalt sich mit Jod blau färbt. Trécul (S. 159, 465) entdeckte 1865 diese Blaufärbung zuerst bei seinem Amylobacter. Van Tieghem (1877) beschreibt dann schon sehr gut das Auftreten des „amidon amorphe“ in dem Protoplasma eines Bacillus Amylobacter und den Verbrauch des Stoffes bei der Sporenentwickelung, und schildert die Lagerung und das Verschwinden des sich mit Jod bläuenden Körpers bei der Sporenreife ferner für sein Spirillum amyliferum (1879 b). Wenn wir hinzufügen, dass auch van Tieghem (1879 a pag. 7) schon schildert, wie die Bildung des Amidon nicht nur in stärkehaltigen Lösungen, sondern ebenso gut in Lösungen, welche Zucker, Glycerin, Mannit oder milchsauren Kalk enthalten, vor sich geht, so ist es klar, dass wir seit van Tieghem's Untersuchungen nicht viel Neues in dieser Frage gelernt haben.

In der That entspricht der folgende aus Fischer's (1897 b S. 13) Vorlesungen entnommene Satz, wenn wir von den nachher zu erwähnenden Angaben von Beijerinck (1893) absehen, unseren heutigen Kenntnissen über die sich im Jod blau färbende Verbindung:

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05155-00447-6

„Besondere geformte Zelleinschlüsse fehlen den meisten Bacterien, deren Inhalt mit Jodlösung sich goldgelb färbt, wie alles Protoplasma. Einige Buttersäurebacterien aber, ferner einige die menschliche Mundhöhle bewohnende Arten färben sich mit Jodlösung bläulich bis schwarzviolett, sie geben die sog. Granulosereaction. Der Stoff, der diese Reaction veranlasst, ist noch nicht genau bekannt, er wird als Granulose bezeichnet, weil er sich genau so färbt wie der gleichnamige Bestandtheil der Stärkekörner. Ob er mit ihm chemisch ganz übereinstimmt, ist aus der Jodreaction allein nicht zu entnehmen, ein Kohlenhydrat ist er wahrscheinlich."

Als ein Fortschritt in der Frage ist es zu bezeichnen, dass ich jetzt entdeckt habe, dass mein Granulobacter butylicum einen Reservestoff speichert, welcher sich mit sehr wenig Jod blau, mit mehr Jod rothbraun färbt. Ich füge hinzu, dass sich bei den auch auf ihre Jodreaction von mir geprüften Bacterien des Zahnbelages die blaue Farbe etwas kräftiger zeigte, jedoch bei etwas grösserem Jodzusatze ebenfalls einer dunkelrothbraunen Färbung Platz machte, die allerdings, infolge des grossen Gehaltes des Reservestoffes an sich mit Jod blau färbender Substanz, etwas schmutzig ausfiel.

Ueber das Vorkommen eines mit Jod sich rothbraun färbenden Reservestoffes bei den Bacterien habe ich eine Notiz bei Beijerinck (1893 S. 9) gefunden. Ich weiss nicht, ob sich diese Notiz auf einen Fall bezieht, in welchem in Wirklichkeit eine Mischung der sich blau und der sich roth färbenden Substanz vorlag oder in der That nur ein sich mit Jod roth färbender Reservestoff. Beijerinck sagt: „Im Staube orientalischer Getreide finden sich übrigens sehr merkwürdige, Sporen erzeugende Nebenarten von Granulobacter Polymyxa, eine davon wächst aerobie, bildet sehr zähe Zooglöen und enthält Glycogen anstatt Granulose." Der Ausdruck „Glycogen" kann selbstverständlich hier nur „eine sich mit Jod roth färbende Substanz" bedeuten, da Beijerinck über die chemische Natur der sich mit Jod roth färbenden Substanz keine Untersuchung angestellt hat.

Bei B. subtilis habe ich nun in der That einen Fall aufgefunden, in welchem als Reservestoff ein sich mit Jod unter allen Umständen roth färbender Körper gespeichert wurde.

Nach den mikrochemischen Versuchen, welche ich mit dem Reservestoff von B. subtilis und mit dem Reservestoff von Granulobacter butylicum angestellt habe, und nach den makrochemischen Versuchen, welche Beijerinck mit dem sich durch Jod blau färbenden Reservestoff seines Granulobacter butylicum machte, kann es keinem

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05155-00448-2

Zweifel unterliegen, dass wir es in diesen Reservestoffen mit Kohlenhydraten zu thun haben.

In mikrochemischer Beziehung zeigten uns, wie wir sahen, die Reservestoffe wichtige allgemeine Reactionen der Kohlenhydrate, und besonders auch solche, welche der β-Amylose, dem Amylodextrin und dem Glycogen zukommen. Diese Reservestoffe sind farblos und stark lichtbrechend; sie lassen sich, wohl deshalb, weil sie schwierig diffundiren, mit Wasser nicht aus den todten Bacterien ausziehen, wohl aber durch verdünnte Schwefelsäure, Malzauszug und Speichel völlig auflösen, wobei die Lösung, welche entsteht, keine Reaction mit Jod mehr zeigt. Gegen Jod verhalten sich die Stoffe genau wie β-Amylose oder Amylodextrin, resp. Glycogen.

Zu diesen Thatsachen kommt die wichtige Angabe von Beijerinck ergänzend hinzu. Beijerinck fällte aus einem Liter Würzecultur seines Gr. butylicum mittelst Alkohols die Bacterien, wobei er 7 g lufttrockene Bacterienmasse erhielt, welche er pulverisirte. Er sagt davon (1893 S. 39): „Das Pulver ist reich an Granulose und färbt sich mit Jod violettschwarz. Wird es mit Wasser lange gekocht, so löst sich nur wenig Granulose, jedoch genug, um das Wasser bei Jodzusatz blau zu färben. Bei sehr langem Kochen mit Säuren verschwindet die Granulose und man findet Dextrin und Zucker in der Lösung. Die Umwandlung geschieht aber sehr schwierig. Viel leichter dagegen lässt sich die Granulose durch die verschiedenartigsten Amylasepräparate verzuckern.“ Bei der bekannten Zuverlässigkeit Beijerinck's kann es trotz der etwas kurz gehaltenen Angaben keinem Zweifel unterliegen, dass der bei der Inversion entstandene Zucker von dem Reservestoff der Bacterien herrührte, und so ist also auch sicher, dass bei der Herauslösung des Reservestoffes aus der Zelle durch Säuren Zucker und Dextrin (?) entsteht.

Nach den angeführten Thatsachen müssen wir annehmen, dass von den Bacterien zwei sich mit Jod färbende Kohlenhydrate als Reservestoffe gespeichert werden können: 1. ein sich mit Jod roth färbendes und 2. ein sich mit Jod blau färbendes. Das sich roth färbende fanden wir allein abgelagert bei B. subtilis, während es, mit relativ kleinen Mengen sich blau färbenden Kohlenhydrats gemischt, bei Gr. butylicum vorkam. Die Mischung der beiden Kohlenhydrate verhält sich genau so wie ein Gemisch von viel Amylodextrin mit wenig β-Amylose. Wenn man eine kleine Menge dieses Gemisches mit wenig Jod versetzt, so tritt immer zuerst Blaufärbung ein, die bei Zusatz von mehr Jod einer Rothfärbung Platz macht.

Universitätsbibliothek Regensburg urn:nbn:de:bvb:355-ubr05155-00449-0

Es ist nun zuerst die Frage aufzuwerfen, ob das sich roth färbende Kohlenhydrat Amylodextrin, Glycogen oder ein anderes Kohlenhydrat ist. Amylodextrin kommt bei den höheren Pflanzen in manchen Stärkekörnern sehr reichlich vor, welche dann aber stets zugleich etwas α- und β-Amylose enthalten. (Siehe Arthur Meyer 1895, S. 80.) Das Glycogen ist im Thierreich allgemein verbreitet und soll nach Kühne's (1868) und Anderer Untersuchung bei Aethalium, vorzüglich nach den eingehenden Studien Errera's (1882 etc.), welche sich zuerst an de Bary's (1863) Forschungen über das Epiplasma der Ascomyceten anschlossen, bei Ascomyceten, Mucorineen und Basidiomyceten sehr verbreitet vorkommen. Wenn die Identität des sich roth färbenden Kohlenhydrats der Pilze mit dem Glycogen der Thiere nachgewiesen wäre, so könnte man es wohl als wahrscheinlich erklären, dass auch die Spaltpilze Glycogen führen, und so fragt es sich wiederum hier, ob der betreffende Körper der Pilze Amylodextrin, Glycogen oder ein anderes Kohlenhydrat sei. Fassen wir diese Frage kritisch ins Auge, so haben wir zuerst die grosse Aehnlichkeit zwischen Amylodextrin und Glycogen zu beachten, die hervortritt, wenn wir die Eigenschaften beider Körper, wie folgt, nebeneinander stellen.

	Thierisches Glycogen.	Amylodextrin.
Aussehen:	Weisses, amorphes Pulver;	weisses Pulver in reinstem Zustande, weisse Krystalle.
Löslichkeit in Wasser:	In warmem Wasser leicht zur opalescirenden Flüssigkeit löslich;	in kaltem Wasser schwer löslich, in heissem Wasser leicht zur klaren Flüssigkeit löslich.
Jodreaction:	Verdünnte Lösungen rothbraun; beim Erhitzen verschwindet die Färbung, um unter passenden Verhältnissen wieder zu erscheinen;	ebenso.
Specifische Drehung $(\alpha)_D$:	+192 (n. Clantriau 1895), +197,9 (nach Fränkel), $[(\alpha)_j = +211$ nach Külz, 1881];	+193,4 (Meyer 1895, S. 33).
Reductionsfähigk. geg. Fehling's Lösung:	Soll nicht reduciren;	100 Amylodextrin reduciren wie 6,6 wasserfreier Dextrose (Meyer 1895, S. 34), also sehr schwach.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05155-00450-1

Nimmt man hierzu den Umstand, dass aus beiden Körpern durch Inversion die gleichen Zuckerarten zu entstehen scheinen, so ist es einleuchtend, dass selbst die makrochemische Unterscheidung der beiden Körper nicht leicht ist. Vorzüglich wird die Unterscheidung der Körper dann eine äusserst schwierige, wenn sie beide in unreinem Zustande vorliegen, da Löslichkeit und Fällbarkeit durch Alkohol etc. ungemein durch Verunreinigungen verändert werden können.

Am sorgfältigsten hat wohl nun bisher Clautriau (anscheinend auf Errera's Veranlassung) das Kohlehydrat aus Pilzen herzustellen und zu reinigen versucht, aber auch er hat freilich nicht durch vergleichende fractionirte Fällung die Reinheit seiner Produkte nachgewiesen. Als Eigenschaften des von ihm aus Amanita muscaria dargestellten Kohlenhydrates werden von ihm angegeben, dass es ein weisser, 0,315 % Asche enthaltender Körper sei, welcher sich zur opalisirenden Flüssigkeit löse, deren Opalescenz nach einigen Monaten verschwände; zur Fällung des Körpers wurden mehr als zwei Volumen Alkohol gebraucht; Jod färbte die Lösung braunroth; $(\alpha)_D = 196{,}2$. Die Lösung des von ihm aus Hefe dargestellten Kohlenhydrates opalisirte schwächer als Leberglycogenlösung (S. 39) und färbte sich mit Jod violettroth; $(\alpha)_D = 184{,}4$. Ich will übrigens darauf hinweisen, dass Cremer (1894) Unterschiede zwischen dem Leberglycogen und dem Hefeglycogen gefunden haben will.

Von den Angaben Clautriau's würde nur das Opalisiren gegen die Amylodextrinnatur des Kohlenhydrates sprechen, wenn wir annehmen, dass der Körper völlig rein, vorzüglich von β-Amylose frei, gewesen sei. Sehr wichtig wäre eine genaue Untersuchung des Reductionsvermögens des Produktes gewesen, denn der unter Anwendung einer guten Methode geführte Nachweis, dass das Produkt nicht im Geringsten reducire, würde durchaus gegen die Amylodextrinnatur desselben sprechen. Allerdings hat Errera (1882, S. 15) angegeben, dass das Pilzglycogen nicht reducire, aber bei dem geringen Reductionsvermögen des Amylodextrins konnte der genügend exacte Beweis für diese Behauptung mit einer aus drei Fruchtkörpern von Peziza vesiculosa hergestellten Menge unreinen Kohlenhydrates sicher nicht erbracht werden. Wir müssen demnach sagen, dass die Identität zwischen dem sich roth färbenden Kohlenhydrat der Pilze und dem Glycogen der Thiere auf makrochemischem Wege noch nicht sicher erwiesen ist, dass aber das Kohlenhydrat unbedingt dem Glycogen und dem Amylodextrin sehr nahe steht.

Universitätsbibliothek Regensburg urn:nbn:de:bvb:355-ubr05155-00451-7

Nach dem Gesagten ist es leicht verständlich, dass die bisher benutzten mikrochemischen Methoden eine Bestimmung der specielleren Natur des Kohlenhydrates nicht gestatten. Besonders ist dabei hervorzuheben, dass die leichte Löslichkeit des in den Zellen liegenden Kohlenhydrates in Wasser keinen Unterschied vom Amylodextrin abgeben kann, da ja z. B. das Inulin, welches in reinem Zustande in kaltem Wasser sehr schwer löslich ist, in den Zellen in einer concentrirten, sich mit Wasser mischenden Lösung vorkommt.

So müssen wir auch bezüglich der genauen Feststellung der chemischen Natur des sich mit Jod roth färbenden Kohlenhydrates, welches unbedingt auch dem Glycogen und Amylodextrin sehr nahe steht, auf eine genaue makrochemische Untersuchung des Körpers warten.

Sollte es sich herausstellen, dass dieser Körper Glycogen ist, so dürften wir dann das sich blau färbende Kohlenhydrat nicht als β-Amylose (Granulose) ansprechen, sondern wir müssten annehmen, dass es ein Condensationsprodukt des Glycogens sei, welches sich zum Glycogen verhalten würde wie die β-Amylose zum Amylodextrin.

Von diesem Gesichtspunkte aus ist es interessant, dass auch das thierische „Glycogen" manchmal eine kleine Menge eines sich blau färbenden Stoffes zu enthalten scheint. So z. B. sagt Barfurth (1895, S. 261): „Was nun die Reaction einer Jodlösung auf Glycogen anbetrifft, so besteht sie bekanntlich in einer braunen oder rothbraunen, rostfarbenen, mahagonibraunen, maronenbraunen, zuweilen auch purpurrothen, violetten oder auch bläulichen Färbung."

Auch über das Pilzkohlenhydrat findet man ähnliche Angaben.

Interessant ist es, dass wir bei den mit hohem Condensationsvermögen versehenen Chlorophyllpflanzen als Hauptprodukt die Stärke, als Nebenprodukt das Amylodextrin finden, während bei Thieren, Pilzen und Spaltpilzen der sich mit Jod roth färbende Körper in relativ grösserer Menge als der sich mit Jod blau färbende vorzukommen scheint.

Zum Schlusse möchte ich noch darauf aufmerksam machen, dass wahrscheinlicherweise bei allen denjenigen Spaltpilzen, bei welchen wir die in Rede stehenden Kohlenhydrate finden, auch ein diastaseähnliches Enzym vorkommen wird, welches den Abbau dieser Körper besorgt. In der That ist ja diese Voraussetzung bei B. subtilis erfüllt und aus Gr. butylicum konnte Beijerinck (1893, S. 41) eine Amylase herstellen, welche aus Amylose Amylodextrin zu bilden vermag, Dextrine angreift und wahrscheinlich Maltose aus Amylose bildet.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05155-00452-2

Fett und die mit Jod färbbaren Kohlenhydrate sind höchst wahrscheinlich nicht die einzigen Reservestoffe, die im Cytoplasma der Spaltpilze abgelagert werden können. Ich mache hier nochmals auf die früher (1897 *b*, S. 206 u. 223) von mir für B. asterosporus angegebene Thatsache aufmerksam, dass der fixirte Vacuoleninhalt sich oft mit Farbstoffen intensiv färbt. Vielleicht werden auch gelöste Eiweissstoffe in diesen Vacuolen gespeichert.

Ueber die Kerne der Bacterien.

Die Untersuchung über die Bacterienkerne habe ich gleich nach Veröffentlichung meiner ersten Abhandlung fortgesetzt und später mehrmals wieder aufgenommen, so oft das Licht[1]) an Tagen, die ich zur wissenschaftlichen Arbeit benutzen konnte, günstig war. Als ich meine erste Mittheilung über Bacillus asterosporus veröffentlichte, war die Untersuchung über B. tumescens schon sehr weit fortgeschritten; es fehlte mir leider nur an Zeit, den Abschluss der Arbeit herbeizuführen. Um Missverständnissen vorzubeugen, mache ich mit Rücksicht auf die jetzt von mir veröffentlichte Kernfärbemethode darauf aufmerksam, dass ich (1897, S. 235) vor Migula (1898, S. 146) verdünnte Methylenblaulösung zur Kernfärbung gebrauchte und zur Untersuchung der nicht angetrockneten Bacterien dieselben mit Formol (1897, S. 197) und Osmiumsäure (S. 199) fixirt habe.

Ich habe auch damals schon für B. tumescens Fuchsin und andere Farbstoffe angewandt, aber erst beim gleichzeitigen Gebrauche von conc. Formol gute Resultate erhalten.

Was Migula's gegen meine Arbeit gerichteten Untersuchungen (1898) betrifft, so besitzen dieselben keine Bedeutung, weil dieser Autor keinen Unterschied unter allen Körnchen aller Bacterien festzustellen verstand und deshalb Beobachtungen, die von ihm an meinen Kernen und an Fetten, vielleicht noch an anderen körnigen Einschlüssen des Bacteriencytoplasmas, gemacht wurden, alle auf meine Kerne übertragen konnte. Er sagt (1898, S. 146): „In dem Verhalten gegenüber Farbstoffen lassen sich also zwischen den „Kernen" der Astasia und den Körnchen anderer Bacterien Unterschiede nicht erkennen." Dass er Fetttropfen und meine Kerne nicht auseinander halten konnte, geht ja auch aus dem schon erwähnten Passus seines Handbuches (1897, S. 89) hervor, und das Zusammenwerfen der Körnchen von

1) Alle künstlichen Lichtquellen sind leider für diese Untersuchungen viel ungeeigneter als von hellen Wolken reflektirtes Licht, da Strahlengang und Farbe des Lichtes bei Benutzung der stärksten Objective eine grosse Rolle spielen.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05155-00453-8

Astasia mit denen von Bacillus Megaterium de Bary[1]), welcher Massen von Fetttropfen enthält (S. 149), lässt die Konfusion, die Migula anrichtet, klar hervortreten.

Auch eine neue Arbeit, die aus dem Laboratorium in Karlsruhe hervorging und die Migula doch wohl in einigen Fällen controllirt haben wird, darf wohl erwähnt werden. Burchhard (1898) beschreibt, dass die Sporen von Bacterium flexile, turgescens, Bacillus cursor, paucicutis, bipolaris etc. (anscheinend alle fettbildend) durch Zusammenfliessen von stärker lichtbrechenden Körnchen entstehen. Burchhard hat also hier überall junge Sporen und Fetttropfen mit einander verwechselt.

Es ist nach diesen Thatsachen selbstverständlich, dass ich den Beobachtungen, welche Migula auf S. 148 über die Entstehung der Körnchen bei B. asterosporus und seiner Angabe, dass diese Körnchen sich nicht theilten, nicht die geringste Beweiskraft gegen die Kernnatur der von mir für Kerne erklärten Gebilde von B. asterosporus beimessen kann, denn ich selbst habe unter Umständen andere Körnelungen als Kerne, also solche Körner, die den in den jungen Sporen liegenden Kernen völlig gleichen, in dem Cytoplasma des Spaltpilzes gesehen und weiss nicht, was Migula beobachtet hat.

Die Objecte, mit deren Untersuchung Migula seine Beobachtung hätte beginnen müssen, wenn er sich klar darüber werden wollte, was ich als Kern bezeichnet habe, die in ungefärbtem Zustande in lebenden Zellen relativ leicht erkennbaren Kerne junger Sporenanlagen, hat Migula gar nicht in den Bereich seiner Beobachtung gezogen.

Aber selbst wenn ich annehme, Migula habe meine Kerne beobachtet, so sagen seine Beobachtungen gegen die Kernnatur dieser Gebilde nichts aus. Wenn Migula, wie er S. 148 angibt, ein relativ grosses Körnchen übersehen konnte, so hat er auch andere übersehen können und die „Entstehung" dieser Körnchen unter seinen Augen war eben nur das Insaugefallen junger Kerne, die er vorher übersehen hatte. Und wenn Migula diese winzigen Gebilde sich nicht theilen sah, so wäre das ja für diese von ihm in ungefärbtem Zustande in lebenden Zellen beobachteten Gebilde selbstverständlich, sobald sie Zellkerne wären; denn sie müssten dann wohl für unser Auge zeitweise verschwinden, wenn sie in indirecte Kerntheilung

1) Ob meine Cultur mit der von Migula untersuchten identisch war, kann ich allerdings nicht wissen.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05155-00454-4

eintreten würden. Beobachten würde man die indirecte Theilung mit unseren Instrumenten so nicht können.

Aus der kritischen (?) Besprechung meiner für die Kernnatur der Körnchen in das Feld geführten Gründe durch Migula (S. 143—45) geht hervor, dass Migula die letzteren gar nicht verstanden haben kann. Es erscheint mir diese Thatsache um so eigenthümlicher, als ich in meiner ersten Notiz (1897a), die Migula wohl kennen musste, da Behrens darüber in der Botanischen Zeitung referirt hat, es dem Leser (auf S. 51 und 52) recht leicht gemacht habe, zu erkennen, welche Gründe mir als die wichtigsten erschienen. Es hat für die Sache keinen Werth, weiter auf die Bemerkungen Migula's einzugehen.

* * *

Rutheninroth färbt die Kerne gut, aber relativ schwach und ist deshalb nur bei körnchenarmen Bacterien zu gebrauchen, für fettreiche Bacterien ist es unvortheilhaft. Liegen fettreiche Bacterien vor, so ist es ferner von Wichtigkeit, dass man zur Kernfärbung einen Farbstoff wählt, der das Vornehmen einer gleichzeitigen Fettfärbung gestattet. Unter den zahlreichen von mir geprüften Farbstoffen hat sich mit Formol versetztes Fuchsin am besten bewährt. Die Kernfärbung mit Formolfuchsin führt man folgendermaassen aus. Man mischt 2 ccm concentrirter alkoholischer Fuchsinlösung mit 10 ccm Alkohol von 95 % und 10 ccm Wasser. Von dieser vorräthig zu haltenden Lösung setzt man 15 Tropfen zu 10 ccm Wasser und benutzt diese verdünnte Lösung zum Färben. Zur Kernfärbung rührt man eine kleine Oese der Cultur in einen Tropfen Formol auf dem Objectträger ein und lässt das Formol 4—5 Minuten auf die Bacterien einwirken. Hierauf setzt man 1—2 Tropfen Fuchsinlösung zu und rührt mit dem Platindraht gut um. Nachdem die Fuchsinlösung 10 Minuten unter mehrmaligem Umrühren eingewirkt hat, untersucht man eine Oese voll des Gemisches unter dem Mikroskope. Treten die Kerne der Bacterien noch nicht hervor, so untersucht man nach je fünf Minuten wieder, bis die Kerne deutlich in der rothvioletten Farbe, welche die Fuchsinlösung beim Vermischen mit Formol annimmt, hervortreten. Das Eindringen der Farbstofflösung geht je nach dem Zustande der Stäbchen verschieden schnell vor sich, wofür die Beschaffenheit der Membran wohl hauptsächlich bestimmend sein wird, die auch insofern von Bedeutung ist, als sich die Membran unter Umständen so intensiv färben kann, dass die Kernfärbung fast verdeckt wird. Bleibt die Färbung einmal aus, so muss man mit

Universitätsbibliothek Regensburg urn:nbn:de:bvb:355-ubr05155-00455-0

demselben Bacterienmaterial die Färbung nochmals ganz wiederholen, indem man die Menge des Formols und der Fuchsinlösung etwas verändert. Man wird schliesslich stets eine schöne Kernfärbung erhalten und sich so überzeugen, dass nicht das Fehlen der Kerne im Material, sondern das Färbeverfahren die Schuld trägt, wenn Kerne einmal nicht hervortreten. Uebrigens sind die Kerne selbst in den verschiedenen Entwickelungsstadien der Species nicht gleich leicht und gleich intensiv färbbar. Es ist möglich, dass das Auftreten von Kernkörperchen dabei eine Rolle spielt, aber es ist dieses nicht zu entscheiden, da die Kleinheit der Organe die Erforschung feinerer Strukturen derselben nicht zulässt.

Ueberfärbt man die Bacterien nach dem Fixiren etwas mit Fuchsin und differenzirt man dann mit Essigsäure, so treten die Kerne meist sehr deutlich hervor, aber man muss dann mit der Deutung der Bilder etwas vorsichtig sein, da bei Anwendung dieser Methode die durch die Fetttropfen zusammengedrückten Cytoplasmamassen auch relativ dunkel gefärbt werden. Man mischt am besten zu 5 Theilen einer Mischung von Bacterien, Formol und Fuchsinlösung 1 Theil einer Mischung von 1 Theil Eisessig + 1 Theil Wasser und beobachtet sofort.

Will man Kerne und Fetttropfen in den Bacterien zugleich und verschieden färben, so färbt man die Kerne zuerst nach der Formolfuchsinmethode und setzt dann zu 10—20 Theilen des Gemisches von Bacterien, Formol und Fuchsin 1 Theil Dimethylamidoazobenzollösung.

Methylenblau in der von uns benutzten Verdünnung färbt die Kerne ebenfalls sowohl in lebenden als fixirten Stäbchen, aber es ist selten, dass die relative Intensität der Färbung eine derartige wird, dass die Kerne sich von dem Cytoplasma genügend scharf abheben. In den Fig. 50, 51 und 32 Taf. XXI sind mit Methylenblau gefärbte Kerne dargestellt. Die Unsicherheit dieser Methode bedingte es, dass sich bei meinen ersten Versuchen mit dem verdünnten Methylenblau und normalen Stäbchen immer nur ein Kern, wohl ein besonders peripher liegender, färbte, so dass ich anfangs zu der Meinung gelangte, es enthalte jede Zelle nur einen Kern.

Ueber das Aussehen der nach der Formolfuchsinmethode gefärbten Bacterien und ihrer Kerne ist nun im Allgemeinen Folgendes zu bemerken:

Bei B. asterosporus habe ich in der jungen Sporenanlage der lebenden Sporangien den Kern als ein kleines Körnchen von eigenthümlicher Lichtbrechung oft gefunden; ebenso konnte ich unter

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05155-00456-6

Umständen einen Kern in der Sporenanlage lebender Sporangien von B. tumescens erkennen, wenn die Lichtbrechung derselben noch gering war, während in den fettreichen Stäbchen die ungefärbten Kerne selbstverständlich durch die Tröpfchen verdeckt werden. Dieselben Kerne der Sporenanlagen, welche mit Rutheniumroth nur unsicher färbbar sind, lassen sich ziemlich sicher durch Formolfuchsin färben. Trotz der relativ unsicheren Methode, die ich früher benutzte, habe ich bei B. asterosporus im Allgemeinen richtig gesehen, nur habe ich früher in den Sporangien niemals drei Kerne beobachtet, während ich jetzt drei Kerne oft fand. Die Lage der drei Kerne ist oft die in Fig. 60 und 61 Taf. XXI abgebildete. Sind zwei Kerne vorhanden, so liegt einer oft in der Spitze, an der Peripherie der Sporenvacuole; auch wenn ein Kern vorhanden ist, liegt er in der Peripherie der Sporenvacuole.

Die Kerne der von mir genau untersuchten beiden Species sind von annähernd gleicher Grösse. Intensiv gefärbte, runde, also dann wohl ungefähr kugelförmige, hatten meistens den Durchmesser des in Fig. 43 *b* Taf. XXI dargestellten Kernes. Etwas kleinere Kerne fand ich oft, wo zwei derselben dicht neben einander lagen, so dass man sie als eben getheilte Kerne betrachten konnte, und relativ gross fand ich den Kern, wenn er einzeln in einer Zelle oder Sporenanlage vorkam (Fig. 57 Taf. XXI). Vereinzelt konnte ich langgestreckte und eingeschnürte Kerne von schwacher Färbung finden, wie sie in Fig. 38 *d* Taf. XXI dargestellt sind.

Die Sporen von B. tumescens sind mit einer Membran von sehr wechselnder Dicke versehen, welche wie die von B. asterosporus deutlich in Exine und Intine gegliedert ist. Diese Gliederung tritt gut bei Färbung mit Safraninlösung hervor (Fig. 33 Taf. XXI), manchmal auch gut bei der Fuchsinfärbung (Fig. 35 Taf. XXI). Die Sporen sind, wie in allen Fällen bei den Bacillusarten, von etwas wechselnder Grösse und Form. Gut ausgebildete Sporen sind ungefähr ellipsoidisch, im Querschnitte kaum bemerkbar sechseckig, also fast kreisrund, etwas seitlich von ihren Polen mit je einem hauptsächlich von der Exine gebildeten Spitzchen versehen (Fig. 33 u. 35 Taf. XXI). Aehnlich wie die Leisten der Exine von B. asterosporus mehr oder weniger stark ausgebildet sind, wechselt auch die Grösse der Spitzchen sehr, und können die Spitzchen anscheinend einzelnen Sporen ganz fehlen. Sie kommen aber der Mehrzahl aller Sporen jeder Cultur stets zu, sind also ein Charakteristicum der Species. Diese Spitzchen sind keine Keimstellen; die Sporen keimen, wie bekannt, niemals polar.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05155-00457-2

Im Ruhezustand der Spore verhindert die Membran den Eintritt des Fuchsins zu dem Protoplasten meist ganz, der sich sofort im Formolfuchsin färbt, wenn man die Spore zerquetscht. Wenn die Spore vor der Keimung anschwillt, so wird die Durchlässigkeit der Membran für den Farbstoff grösser, und es färbt sich das Stäbchen. In der ruhenden Spore konnte ich einen Kern mit meiner Methode nicht nachweisen, wohl aber tritt in den angeschwollenen Sporen hie und da ein peripher liegender Kern deutlich hervor (Fig. 35 Taf. XXI).

Die eben aus der Spore herausgeschlüpften Stäbchen lassen bei Färbung mit Formolfuchsin schon eine Membran erkennen; diese Membran, welche noch keine Schleimschicht besitzt, ist noch leicht durchlässig für den Farbstoff, und die Färbung des Protoplasten geht deshalb schnell und intensiv vor sich. Die Kerne sind nur schwierig zur Anschauung zu bringen, da sie sich relativ schwach färben. Wie Fig. 36 Taf. XXI zeigt, finden sich in jungen Stäbchen 1—2 Kerne, die sogar relativ gross sind.

Wenn bei weiterem Wachsthum und weiterer Theilung des Keimstäbchens relativ dicke und lange einzellige Stäbchen entstehen, so findet man mehr Kerne in den Schwärmern, höchstens aber sechs. In Fig. 37 Taf. XXI ist ein gutgefärbter Doppelschwärmer mit je sechs Kernen im Stäbchen abgebildet; unter diesen Kernen ist einer etwas gestreckt.

Tritt in den Schwärmern Fett auf, so ändern sich die Verhältnisse in normalen Kulturen nicht. In Fig. 38 Taf. XXI ist ein Doppelschwärmer abgebildet, dessen Stäbchen in Theilung begriffen sind. Wie es sehr häufig der Fall ist, liegt hier je ein Kern gerade an den Stellen, an welchen sich eine neue Zellwand bilden soll, und die beiden hier abgebildeten Kerne scheinen in Theilung begriffen zu sein.

Wenn sich Ruhestäbchen bilden, die in mehr oder weniger lebhafter Theilung eintreten, so kommt es bezüglich der Zahl der Kerne, die in einer Zelle vorkommen, anscheinend sehr darauf an, wie sich das Wachsthum und die Theilung der Zellen zu einander verhalten. In Fig. 40 Taf. XXI sind einige Ruhestäbchen mit kurzen Zellen dargestellt, welche in schneller Theilung begriffen waren. In den meisten Zellen des Präparates, aus welchen diese Stäbchen stammten, konnte ich nur einen, meist in der Mitte liegenden Kern erkennen, seltener fanden sich zwei Kerne. Im übrigen schwankt die Zahl der Kerne in den Ruhestäbchen zwischen eins und sechs.

Da die normalen Sporangien nur ungefähr die doppelte Sporenlänge besitzen, so findet man in ihnen nur 1—3 Kerne. Der Inhalt

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05155-00458-8

der Sporenvacuole und das diese umgebende Cytosplasma färbt sich relativ intensiv, und so ist das Anwachsen der Sporenvacuole in den gefärbten Präparaten noch besser zu verfolgen als in den ungefärbten. Wie sich die Kerne bei der Sporenbildung verhalten, konnte ich wegen der wechselnden Zahl der Kerne in den Sporangien und wegen der, wie allen, auch unserem Färbeverfahren anhaftenden Unsicherheit noch nicht abschliessend entscheiden. Färbt man eine Oese voll Material aus einer Kolonie, so kommt es immer vor, dass eine kleine Reihe von Sporangien des in Fig. 43 Taf. XXI dargestellten Entwickelungsstadiums keine Kerne erkennen lässt, während die Mehrzahl sich verhält wie Fig. 43 und 44 Taf. XXI. Im allgemeinen findet man in Stadien, wie sie in Fig. 41 Taf. XXI dargestellt sind, schon an den Polen des Stäbchens, ganz peripher einen Kern oder zwei Kerne, von denen der eine (Fig. 43 *a* Taf. XXI) oft in der Sporenvacuole liegt, während sich der andere (*b*) so am Rande hält, dass man annehmen muss, er liege noch im wandständigen Cytoplasma des Sporangiums. In manchen Sporenanlagen findet sich ein relativ grosser, intensiv gefärbter Kern (Fig. 44 Taf. XXI).

Da in den Sporangien oft 2—3 Kerne vorkommen, man aber niemals mehr als einen Kern in den reifen Sporangien neben der Spore findet, da ich ferner oft einen Kern neben der einen Kern führenden Sporenvacuole sah, so ist die Frage zu stellen, ob nicht Kernverschmelzung stattfinde.

In 14 Tage alten, kaltstehenden Culturen, in denen die Zellen von B. tumescens anschwellen, die kurzen, dicken Stäbchen sich unregelmässig theilen, findet man ebenfalls bis zu sechs Kerne (Fig. 32 Taf. XXI), manchmal von etwas verschiedener Grösse, und in Fäden, welche zehnmal länger als die normalen Stäbchen und halb so dick waren, ohne septirt zu sein, sah ich bis zwanzig Kerne in regelmässigen Abständen. Diese unseptirten Fäden, welche dem schon von mir früher (1897) für B. asterosporus in Fig. 29 Taf. VI abgebildeten Faden entsprechen, fand ich in ganz alten Kulturen.

Nachdem ich nun die von mir als Kerne bezeichneten Gebilde der Bacterien nochmals angesehen habe, möchte ich mit Hinweis auf das früher von mir (1897 *b*, S. 227) Gesagte, nochmals kurz auseinandersetzen, welche Gründe mir dafür zu sprechen scheinen, dass diese „Kerne", den Zellkernen anderer Organismen homologe Gebilde sind.

Für mich können, wenn ich die Frage stelle, welcher Werth diesen Gebilden zukommt, zuerst nur zwei Möglichkeiten in Betracht

Universitätsbibliothek Regensburg urn:nbn:de:bvb:355-ubr05155-00459-6

kommen. Sie können entweder ergastische Gebilde (siehe Arthur Meyer 1898, S. 18) oder protoplasmatische Organe sein. Ergastische Gebilde, welche in dem activen Cytoplasma oder in den Chromatophoren entstehen, also z. B. Stärkekörner, Fetttropfen, Oxalatkrystalle, besitzen nur selten in einer Zelle unter sich so gleiche Grösse, wie sie unsere „Kerne“ zeigen; sie zeigen wohl niemals in verschiedenen Zellen und noch weniger in den Zellen verschiedener Species eine so grosse Uebereinstimmung in ihrer Grösse wie die „Kerne“. Dazu muss ich bemerken, dass ich noch einige andere Bacterienspecies, unter anderen auch Bacillus Megatherium de Bary (?) untersucht habe und auch dort die „Kerne“ von annähernd gleicher Grösse fand wie bei B. asterosporus und tumescens. Ergastische Gebilde sind ferner wohl niemals in so constanter Zahl in Zellen bestimmter Grösse vorhanden. Dafür, dass die „Kerne“ nicht zu der biologischen Gruppe der ergastischen Gebilde gehören, welche wir als Reservestoffe bezeichnen, spricht ihr Auftreten vor der Fettbildung in den Sporen und Keimstäbchen und ihr Erhaltenbleiben nach der Sporenbildung in den Sporangien. Wären sie Reservestoffe, so würden sie bei der Sporenbildung doch wohl ebenso verbraucht werden wie das Fett, und wären sie Reserveeiweiss, so würden sie wohl noch vor der Membranbildung der Spore verbraucht werden.

Es ist also wahrscheinlich, dass diese „Kerne“ ein protoplasmatisches Organ der Bacterienzelle sind. Wenn dieses feststeht, so ist das Naheliegendste, dass wir sie als Zellkerne betrachten. Es spricht für ihre Kernnatur zuerst ihr Verhalten bei der Sporenbildung. Wie wir das von den meisten Sporen her kennen, tritt auch bei den Bacterien in jede Spore ein „Kern“ ein. Beim Auswachsen der Keimstäbchen nimmt die Zahl der Kerne in einer Zelle zu; dass die Zahl der „Kerne“ dabei innerhalb bestimmter Grenzen wechselt, ist eine bei vielen Pilzen vorkommende Erscheinung. Der Kürze wegen verweise ich auf Zimmermann's Zusammenstellung (1896, S. 116) und erwähne daraus als Beispiele Aspergillus glaucus mit 3—30 Kernen, Helvella ephippium mit bis zu zehn Kernen, Collema und Peltigera mit 2—3 Kernen, Erysiphe communis mit einem Kerne in jeder Zelle.

Mit der Zellkernnatur stimmen ferner die vorkommenden Gestalten der Kerne, auch die der anscheinenden Theilungsstadien, dann die Grössenverhältnisse der Gebilde und ebenso die etwas variable Art der Färbbarkeit der Kerne in den verschiedenen Entwickelungsstadien der Species. Das Verhalten der „Kerne“ zu den Farbstoffen spricht nicht gegen die Annahme, dass sie Zellkerne seien.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05155-00460-6

Wenn nun auch mit alledem kein absoluter Beweis dafür erbracht ist, dass diese „Kerne" normale Zellkerne sind, so ist doch die Wahrscheinlichkeit für diese Annahme eine sehr grosse. Sollten sie keine Zellkerne sein, so müssten sie neue Organe der Zellen sein, welche die grösste Aufmerksamkeit verdienen würden.

Gründlich räumt wohl der Hinweis darauf, dass der Bacterienprotoplast Fetttropfen und glycogenähnliche Substanzen in Masse in sich ausbildet, mit der Meinung Bütschli's von der Kernnatur der Hauptmasse des ganzen Spaltpilzprotoplasten (siehe dazu meine frühere Abhandlung 1897 *b*, S. 225) auf; denn selbst Bütschli, der noch meinen könnte, die Vacuolen seien ein Ausdruck seiner Schaumstruktur des Protoplasten, wird wohl zugeben, dass Fett bildende Zellkerne und Glycogen führende Zellkerne etwas ganz neues im Organismenreiche wären.

Ich habe früher (1897 *b*, S. 231) eine kurze Besprechung der Litteratur über die Sporenbildung gegeben und schliesslich dort bemerkt, dass ich den Schluss wagen dürfe, dass bei den Bateriaceen die Entwickelungsgeschichten der Sporen im Sporangium in allen Fällen der Entwickelungsgeschichte der Sporen von B. asterosporus und tumescens und so auch im allgemeinen der Sporenentwickelung der Ascomyceten gleiche. Es sind nun Angaben von tüchtigen Forschern gerade über B. subtilis gemacht worden, welche vorläufig noch gegen die Allgemeingültigkeit meiner Behauptung ins Feld geführt werden könnten, bei deren Beurtheilung man allerdings berücksichtigen muss, dass die den Angaben zu Grunde liegenden Beobachtungen, der betreffenden Zeit entsprechend, theilweise mit noch wenig leistungsfähigen Instrumenten ausgeführt werden mussten. Die Beschreibung, welche die verschiedenen Autoren von der Sporenentwickelung bei B. subtilis geben, sind sehr verschiedenartig. Brefeld spricht sich vorsichtig aus, indem er sagt (1881, S. 40): „Sobald die Sporenbildung in den Stäbchen anhebt, zeigt sich an einer Stelle, welche meistens der Mitte zu gelegen ist, ein dunkler Schatten, welcher um so deutlicher hervortritt, als die umliegenden Partieen gleichzeitig heller werden. Es hat den Anschein, als ob die Substanzmasse des Stäbchens sich an einer Stelle sammele." de Bary (1884, S. 505) bemerkt, dass die Sporenbildung von B. subtilis der von B. Anthracis „durchaus ähnlich" sei und verweist bei letzterem Spaltpilze auf B. Megaterium, wo er (1884, S. 502) sagt, dass der erste Anfang der Sporenbildung ein kleines Körnchen sei, welches sich mehr und mehr vergrössere und schliesslich zur Spore heranwachse. Alfred Fischer

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05155-00461-2

(1897 *b*, S. 19) bemerkt ebenfalls, dass die Sporen des Heupilzes in gleicher Weise entständen wie die des Milzbrandspaltpilzes. Von den Sporen der B. Anthracis berichtet er Folgendes: „Ihre Entwickelung würde beim Milzbrandbacillus damit beginnen, dass der Inhalt eines Stäbchens zu einem ellipsoidischen Körper sich zusammenzieht, der zunächst noch keine eigentliche Haut hat und von der sonst leeren Stäbchenhaut umschlossen wird. Später schrumpft der junge Sporenkörper noch etwas mehr zusammen, er wird dichter und lichtbrechender als er früher war, als er noch als Protoplast das ganze Stäbchen erfüllte. Jetzt scheidet die junge Spore eine eigene Haut aus". Noch anders lautet die Beschreibung, welche Migula und sein Schüler Burchhard über die Sporenentwickelung machen. Ueber ältere, gleichlautende Angaben von Zopf (1885, S. 82) habe ich schon früher (1897 *b*, S. 235) gesprochen. Migula sagt (1898, S. 149): „Einen ganz ähnlichen Vorgang beobachtete man bei der Sporenbildung der meisten Bacterien. Auch hier fliessen die an und für sich schon grösseren Körnchen sehr häufig zu einem grösseren, der Sporeninitiale, zusammen." Burchhard rechnet auch B. subtilis zu diesen „meisten Bacterien" indem er bemerkt (1898, S. 53): „Die Sporenbildung wurde meist durch Körnchenbildung und späteres Zusammenfliessen, wie bei B. subtilis, eingeleitet."

Nach dem Mitgetheilten hat die von mir ausgeführte erneute Untersuchung der Sporenentwickelung von B. subtilis für die Beurtheilung meines anfangs mitgetheilten Ausspruches Bedeutung. Zur Untersuchung habe ich zwei aus verschiedenen Heusorten, zu verschiedenen Zeiten gewonnene Reinkulturen als Ausgangsmaterial benutzt, welche genau die von Alfred Fischer (1895) beschriebenen Eigenschaften besassen. Ich untersuchte zuerst die junge Kahmhaut zahlreicher auf Asparagindextrosenährlösung bei 28° gewachsener, sehr gesunder Culturen, sowie einige in gesunder Entwickelung und Sporenbildung begriffene Culturen auf Traubenzuckernähragar. Die Sporangien junger Kahmhäute hängen meist weniger fest zusammen, und ihre länglichen Sporangien sind an den Enden meist mehr abgerundet als die älterer Kahmhäute, welche die bekannten Zellfäden kurz cylinderischer Sporangien mit meist mittelständiger Spore oft entwickeln. Die Beobachtung der zahlreichen Culturen lehrte zuerst, dass in gesunden Culturen den jüngsten und den ältesten Sporangien ein körniges Aussehen vollkommen fehlt. Es waren weder Körnchen zu sehen, welche zusammenfliessen konnten, noch solche, welche als Sporeninitiale gedeutet werden konnten. In alten Kahmhäuten fanden

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05155-00462-8

sich allerdings hie und da absterbende Zellen, in denen das Plasma bis auf einige glänzende Körnchen zerfallen war, aber diese Vorkommnisse konnten bei Benützung der Zeiss'schen Linsen (Apochromat 2,0 mm, Ap. 1,4; Comp.-Ocular 12 und 18) nicht zu Verwechselungen führen. Die wichtigste Entwickelungsgeschichte der Sporangien und Sporen gleicht ganz der von B. asterosporus und B. tumescens. Fünf nach lebenden Zellen gezeichnete Entwickelungsstadien habe ich in Fig. 5 Taf. XXI dargestellt. In Fig. 5*a* Taf. XXI hat sich das Cytoplasma eben in den fertilen und den trophischen Abschnitt gegliedert, in *e* liegt die fast reife Spore; *b, c, d* sind dazwischen liegende Entwickelungsstadien. Das Cytoplasma des Sporangiums wird auch bei B. subtilis erst nach der Reife der Sporen, beim Zerfall des Sporangiums oder ganz kurz vorher zerstört, geht also auch hier nicht in die Sporenbildung völlig ein. Die frei gewordene Spore ist in Fig. 6 abgebildet. An der Membran erkennt man auch hier Exine und Intine; beide sind an den Polen etwas dicker als an dem Aequator. Die kontinuirliche Beobachtung der Entwickelungsgeschichte der Sporangien wurde an einer von der Nährlösung abgenommenen Kahmhaut, im Hängetropfen, in einer geräumigen feuchten Kammer untersucht. Da die Beobachtung anfangs bei einer Temperatur von 12—14 °C. stattfand, verlief der Process der Sporenbildung relativ sehr langsam. Eine etwas schwächer conturirte Vacuole als sie in Fig. 5*a* Taf. XXI dargestellt ist, erschien 11 Uhr Morgens in einem Sporangium. Bis 11 Uhr Nachts war erst das Stadium Fig. 5*b* Taf. XXI erreicht, um 4 Uhr des nächsten Morgens der Zustand Fig. 5*c* Taf. XXI, dann folgte sehr schnell der Zustand Fig. 5*d* Taf. XXI.

Da bei B. tumescens die Fetttropfen eine wichtige Rolle spielen und uns etwas weitere Aufschlüsse über den Verlauf des Sporenbildungsprocesses geben, so will ich die Entwickelungsgeschichte des Sporangiums dieses Pilzes noch etwas eingehender beschreiben. Die Figuren 7 bis 12 Taf. XXI stellen, nach continuirlicher Beobachtung, ein und dasselbe Sporangium in verschiedenen Entwickelungsstadien dar; an Fig. 12 Taf. XXI schliesst sich das Stadium Fig. 13 Taf. XXI eines anderen Stäbchens an, welches wieder in Fig. 14 und Fig. 15 Taf. XXI die fortschreitende Entwickelung der Spore zeigt. Da bei der Beobachtung der Bacterien in der feuchten Kammer niemals ganz so klare Bilder zur Anschauung kommen, als wenn man die Bacterien unter Deckglas in dünner Schicht untersucht, so sind in den Fig. 16 bis 22 Taf. XXI noch zusammengesuchte Entwickelungsstadien genau

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05155-00463-4

nach lebenden Zellen abgebildet worden. In den Sporangien ist das Fett anfangs ziemlich gleichmässig vertheilt. Bei fortgesetzter Beobachtung eines Sporangiums sieht man stetige Verschiebungen der Lage der Tröpfchen vor sich gehen. Als erstes Anzeichen des Beginnes der Sporenbildung erkennt man am lebenden Sporangium das Wegrücken der Tröpfchen von der Spitze der Zelle und das Auftreten einer Sporenvacuole, welche anfangs viel schwächer lichtbrechend ist, als das sie direct umgebende wandständige Cytoplasma des Sporangiums (Fig. 7 und 16 Taf. XXI). Die Sporenvacuole nimmt weiter an Ausdehnung zu und drängt das trophische Plasma mit dem Fette mehr und mehr zurück (Fig. 9 und 18 Taf. XXI), bis die fettfreie Stelle ungefähr so lang ist als die spätere Spore; dabei wird die Vacuole schon deutlich stärker lichtbrechend als das trophische Cytoplasma, in welchem die Fetttropfen liegen. In diesem Zustande haben wir also im Sporangium zwei Abschnitte zu unterscheiden, den oberen fertilen und den unteren trophischen. Der fertile besteht aus der Sporenvacuole, welche umgeben ist von dem sich noch nicht von ihr deutlich absetzenden, homogenen fertilen Cytoplasma, welches also jetzt von Fett frei bleibt, bis die Spore sich scharf von ihm abgliedert (Fig. 20 Taf. XXI); dann kann hie und da ein Fetttropfen neben der Spore auftreten. Bei der Färbung mit Fuchsin macht der fertile Abschnitt meist einen ganz homogenen Eindruck (Fig. 42 und 43 Taf. XXI), weil sich die Sporenvacuole, welche vielleicht bald Eiweissstoffe in ihren Zellsaftvacuolen speichert, so intensiv färbt wie das sie umgebende Cytoplasma. Dass die Sporenvacuole aber in der That nicht homogen ist, sondern Zellsaftvacuolen enthält, haben wir bei B. asterosporus früher (1897 *b*, Taf. VI, Fig. 42 *a*, *e*) kennen gelernt. Das Verhalten der Kerne in dem fertilen Theile ist in derselben Arbeit S. 210 und im vorigen Kapitel dieser Arbeit geschildert worden. Ich mache nur nochmals auf Fig. 43 Taf. XXI aufmerksam, wo ein Kern *a* in der Peripherie der Sporenvacuole, ein zweiter *b* im fertilen Cytoplasma liegt. Eine ganz analoge Gliederung des Sporangieninhaltes finden wir bei den Sporangien von B. subtilis und Granulobacter, ebenso bei B. asterosporus, dessen trophischer Abschnitt, an Stelle der mit Fett oder zähen Kohlenhydratmassen gefüllten Vacuolen, mit anderen Stoffen gefüllte Vacuolen enthält. Eine ganz analoge Gliederung der jungen Sporangien ist uns auch schon längst für die Sporangien der Ascomyceten bekannt gewesen. de Bary hat schon 1863 den trophischen, bei den Ascomyceten „Glycogen“ führenden Abschnitt meist als Epiplasma bezeichnet, manchmal auch das Gly-

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05155-00464-0

cogen, dessen Natur er noch nicht kannte, allein so genannt (S. 22 und 23).

Bald hebt sich nun die Sporenvacuole von B. tumescens erst sehr zart (Fig. 20 Taf. XXI), dann scharf begrenzt durch eine helle Zone (Fig. 21, 11 und 45 Taf. XXI) vom Cytoplasma des fertilen Abschnittes ab, ebenso wie das bei B. asterosporus, bei Granulobacter (Fig. 27 Taf. XXI) und B. subtilis (Fig. 5 *c* Taf. XXI) der Fall ist. Fernerhin wird die Sporenanlage stärker lichtbrechend (Fig. 12 und 22 Taf. XXI) und bildet schliesslich die Membran aus, an welcher relativ früh die Spitzchen auftreten können (Fig. 15). Die genauere Verfolgung der Bildung dieser Spitzchen könnten zur ferneren Aufklärung des Membranwachsthums der Spore von B. tumescens dienen.

Die Stellung der Spaltpilze im System der Organismen und der morphologische Werth der Morphoden der Spaltpilze.

Ich habe in meiner Arbeit über B. asterosporus (1897 *b*) auf S. 240 auf die Aehnlichkeiten zwischen den Bacteriaceen und den Ascomyceten aufmerksam gemacht und gesagt, dass ich sie im System als Schizomyceten neben die Ascomyceten stellen würde. Migula wendet sich gegen diese Ansicht. Er meint (1898, S. 150), dass die Verschiedenheit zwischen den Eumyceten und den Bacterien eine so grosse sei, dass man beide kaum mit einander in Beziehung bringen könne. Was er aber über diese Verschiedenheiten anführt, ist durchaus unrichtig. Er beruft sich zuerst auf das Fehlen der Zellkerne bei den Bacterien und bringt ferner nur noch ein Argument. Er sagt: „Es ist doch u. a. ein sehr beträchtlicher Unterschied darin zu suchen, dass bei den Bacterien die ganze Pflanze unter Bildung einer neuen resistenten Membran in den Ruhestand tritt (Migula meint also in Form der Spore), bei den Ascomyceten aber neben den Vegetationsorganen besondere Fruktifikationsorgane angelegt werden, in denen erst die Sporen entstehen." Das ist selbstverständlich ein merkwürdiger Einwand; denn erstens ist die Spore der Bacteriaceen ebenso wenig und ebenso viel die ganze Pflanze zu nennen wie die Spore von Pertusaria ocellata, von Saccharomyces, Taphrina, Endomyces etc., und zweitens werden auch bei den Hemiasci und Euasci die Sporangien oft morphologisch in ganz gleicher Weise gebildet wie bei den Bacteriaceen, so z. B. bei den Exoasceae. Ich glaube wir finden vorläufig weder in dem Brefeld'schen Systeme, noch in einem anderen einen besseren Platz für die Spaltpilze als der ist, welchen ich den Bacterien auf Grundlage meiner Kenntniss der

Universitätsbibliothek Regensburg urn:nbn:de:bvb:355-ubr05155-00465-6

Bacteriaceen jetzt anweise. Benutzen wir z. B. Englers (1898) Bezeichnung, so würde die Stellung der Spaltpilze folgende werden können.

Unterabtheilung Eumycetes (Fungi, echte Pilze).

3. Klasse Ascomycetes.
   1. Unterklasse Hemiasci. Sporangien mit grösserer und unbestimmter Zahl der Sporen.
   2. Unterklasse Schizomycetes. Sporangien normaler Weise mit einer Spore. In vielen Fällen Schwärmoidien.
   3. Unterklasse Euasci. Sporangien, eine bestimmte Anzahl von Sporen, meist in der Potenz von zwei, selten nur eine enthaltend.

Entsprechend meiner Auffassung der Schizomyceten als Ascomyceten (im weitesten Sinne, wie hier) würden die Morphoden der Schizomyceten folgende Deutung erfahren müssen. Als phylogenetisch primäres Vegetationsorgan der Spaltpilze wäre der Zellfaden anzusehen. In der That kommt der Zellfaden bei den allermeisten Species der Spaltpilze zeitweise und unter bestimmten Umständen noch zur Entwickelung. Entsprechend der Anpassung der Spaltpilze an das Leben in Flüssigkeiten, die, wegen der Kleinheit der Individuen, den Bacterien in äusserst dünnen Schichten zur Wohnung dienen können, kamen als wirksamstes Verbreitungsmittel die Schwärmoidien, resp. gewöhnlichen Oidien, zur Ausbildung.

Da der Begriff des Oidium, wie ich ihn in meinen Vorlesungen definire und hier festhalten möchte, mit dem von Brefeld aufgestellten nicht völlig übereinstimmt, so möchte ich auf ihn hier vorerst näher eingehen. Der Name Oidium ist für eine Sporenform zuerst von Brefeld 1889 (S. 24) gebraucht worden, für welche er früher den Namen Gemme (z. B. bei Dacromyces) benutzt, und welche bei ihm (1889, S. 211) eine relativ einfache Unterart der Chlamydospore bezeichnet. Die Definition, welche Brefeld (1889, S. 245) zuletzt von den Begriffen Chlamydospore und Oidienspore gibt, ist in Tavel's (1892, S. 33) Satze kurz charakterisirt: „Die Ausdrücke Oidie, Gemme, Chlamydospore bezeichnen also alle nur eine zur Spore gewordene Fruchtträgeranlage." Gemme und Chlamydospore sollen dabei dasselbe bedeuten. Ich kann Brefeld nicht zustimmen, wenn er alle Oidien der Pilze als Fruchtträgeranlagen auffasst. Ich kann mir nicht vorstellen, dass alle Oidien der Ascomyceten und Basidiomyceten phylogenetisch gleich alt seien und alle den gleichen phylogenetischen Entwickelungsgang hinter sich hätten. Es liegt näher, anzunehmen, dass die Oidien der Ascomyceten und Basidiomyceten oft phylo-

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05155-00466-2

genetisch spät entstanden seien und dann aus rein vegetativen Hyphen, aus typischem Mycel, hoch entwickelter Species ihren Ursprung genommen hätten. So lasse ich dieses Moment der Definition fallen und definire den Begriff folgendermassen. Oidien sind durch einfachen Zerfall von vegetativen Hyphen entstehende Sporen, also normaler Weise einzellige Verbreitungs- und Vermehrungsorgane der Pilze, welche unter allen Sporenarten in ihrer Morphologie und Psychologie den vegetativen Zellen noch am nächsten stehen. Chlamydosporen sind für mich anlalog angelegte, aber mehr als Dauerform ausgebildete Sporen. Im Anschlusse an de Bary's Namen und Begriffe der Reihengemmen und Sprossgemmen (de Bary 1884, S. 167) wende ich den Namen Reihenoidien und Sprossoidien an und bildete früher (1897 *b*, S. 242) den Namen Schwärmoidien für Oidien, welche durch die Geisseln zur biologischen Leistung der Speciesverbreitung etwas besser ausgestattet sind als die gewöhnlichen Oidien. Alle diese durch Zerfall von vegetativen Hyphen entstehenden Sporen möchte ich als Gemmen zusammenfassen.

Die Oidenbildung wird im allgemeinen bei den Eumyceten durch flüssiges Nährsubstrat begünstigt, so dass es nicht Wunder nehmen kann, wenn wir sie bei den Spaltpilzen in hoher Ausbildung finden. Wie viele Oidien der Eumyceten haben die Oidien der Bacterien die Fähigkeit, mit fortgesetztem Wachsthume auch sofort wieder weiter in Oidien zu zerfallen, ohne erst längere Zellfäden zu bilden. Typischer Weise sind die Oidien der Bacteriaceen einzellig und ein bis mehrkernig und an den Enden mehr oder weniger abgerundet. Da bei den Bacteriaceen wie bei den Ascomyceten Zelltheilung und Kerntheilung nicht eng miteinander verknüpft sind, und die Tendenz zur Bildung von Zellfäden und zur Bildung von Oidien mit einander konkurriren, so erhalten wir bei den Bacterien eine sehr grosse Mannigfaltigkeit der Bildungen, welche vielleicht am besten folgendermassen zu beschreiben sind. Die kleinsten Zellen der Bacteriaceen sind meist etwa doppelt so lang als die Sporen und bilden sich allermeist bei der Sporangienbildung in gesunden Kulturen. Wir wollen die Länge solcher kleinster Zellen einer Species als Masseinheit der Zelllängen benutzen und die längeren Zellen als zweilang, dreilang etc. bezeichnen, wenn sie zweimal, dreimal etc. so lang sind als die Normalzellen und dementsprechend auch eine grössere Zahl von Zellkernen beherbergen. Es können sich nun zuerst Zellfäden bilden, welche aus lauter Normalzellen bestehen (Fig. 67 Taf. XXI); es kann aber auch die Zergliederung des Zellfadens durch Querwände, die in

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05155-00467-8

grösseren Abständen entstehen, stattfinden, oder sie kann ganz unterbleiben. So entstehen Zellfäden aus zweilangen, dreilangen etc. Zellen und eventuell aus verschieden langen Zellen, oder es entsteht eine zwanzig- bis vierziglange vielkernige Zelle, wie ich sie für B. asterosporus (1897 *b*, Fig. 29) und B. tumescens beschrieben habe.

Dazu kommt nun, dass infolge des Beginnens der Oidienbildung die Zellwände sich in ihrer Mittellamelle, unter Verquellung mittlerer Lamellen zu trennen beginnen, und dass, oft schon sobald der Ring der Zellmembran eben beginnt angelegt zu werden, oder auch erst nach der Anlage einer ganzen Zellwand, die Abrundung der zu Oidien werden sollenden Zellen an deren Enden anfängt, ehe die Verquellung der Mittellamellen beendet ist. So erhält der Zellfaden der Bacterien leicht ein gegliedertes Aussehen, wir wollen sagen: er wird „stäbig".

Jedes der Stäbchen des Zellfadens kann nun ein- bis vielzellig sein und die Stäbchen können ein bis mehrlang werden. Die Abbildungen einiger Zellfäden von B. tumescens in den Fig. 63, 64, 67, 68 Taf. XXI können zur Illustration des Gesagten dienen.

Wie die Oidien und die Chlamydosporen von Mucor racemosus direct zu Sporangien auswachsen können, wie ferner bei Taphrina die Hyphe direct in lauter Sporangien zerfallen, und bei den Saccharomyceten jedes Sprossoidium zu einem Sporangium werden kann, so kann auch bei den Bacteriaceen jede Zelle des Zellfadens oder Oidiums zu einem Sporangium werden. Das normale Sporangium ist einlang, enthält in der Jugend eine annähernd bestimmte Anzahl von Kernen, und bildet eine Spore; es kann aber durch Ausbleiben der Theilwände in einem Stäbchen ein einsporiges längeres oder ein mehrsporiges längeres Sporangium entstehen (siehe die Fig. 63, 64, 68 Taf. XXI).

Wo Schwärmoidien bei den Bacteriaceen vorkommen, brauchen diese Homologen der gewöhnlichen Oidien bei der Sporenbildung nicht zur Ruhe zu kommen, da ja bei der Sporenbildung das Cytoplasma nicht aufgebraucht wird, und es ist nach den Erfahrungen, die ich bei B. tumescens machte, möglich, dass man alle Schwärmoidien besitzenden Bacterienspecies dazu zwingen kann, die Sporen schon in den sich bewegenden Schwärmoidien zu erzeugen.

Da die Hyphe bei den Bacterien so schnell zerfällt, so tritt an Stelle der bei den Eumyceten stattfindenden Pseudogewebebildung aus Hyphen die Koloniebildung aus kurzen Zellfäden und Oidien. Bei so ausgezeichnet an ihre Lebensverhältnisse angepassten Pflanzen,

Universitätsbibliothek Regensburg urn:nbn:de:bvb:355-ubr05155-00468-4

wie es die Bacterien sind, ist es zu erwarten, dass der Ersatz der Gewebebildung durch die Koloniebildung für diese zweckmässige Eigenthümlichkeiten der Species gezeitigt hat. Ich habe bei B. asterosporus früher darauf aufmerksam gemacht, dass die Koloniebildung bei dieser Species in Flüssigkeiten activ erfolgt (1897 *b*, Fig. 25), indem die Schwärmoidien nach einander hinschwimmen und, sich festsetzend, zu kleinen, kugeligen, schwimmenden Kolonien zusammentreten, die durch Schleim zusammengehalten werden. So mag vielleicht auch bei mancher anderen Species die erste Anlage der Kolonien auf dem „festen", schliesslich doch stets von einer Flüssigkeitsschicht überzogenen Nährsubstrate stattfinden. Ferner habe ich früher (1897 *b*, S. 207) darauf hingewiesen, dass die lebenden Stäbchen wahrscheinlich die Reste der absterbenden Stäbchen zu ihrer Ernährung benutzen. Ich sagte: „Diese absterbenden Stäbchen liegen theilweise in Gruppen zusammen, theilweise liegen sie vereinzelt zwischen den Sporangien. Ich habe einmal ein solches absterbendes Stäbchen beobachtet und war erstaunt, wie schnell dasselbe der Entleerung einheimfiel; es dauerte kaum vier Stunden, so dass es nicht ganz unwahrscheinlicht ist, dass benachbarte gesunde Stäbchen durch ihren Einfluss die Lösung der absterbenden Protoplasmamassen beschleunigen und die Zersetzungsprodukte selbst wieder benutzen". Auch bei B. tumescens habe ich die schnelle Lösung des Cytoplasmas absterbender Zellen wieder beobachtet und besonders auch gesehen, dass das Fett und die Membran der Lösung länger widersteht als das Cytoplasma (Fig. 53 Taf. XXI). Für derartige Lösungserscheinungen kann man selbstverständlich nur Enzyme verantwortlich machen, welche die lebenden Zellen bilden. Es ist nicht unwahrscheinlich, dass die bekannten peptonisierenden und diastatischen Fermente der Bacterien theilweise eine in erster Linie koloniezweckliche Bedeutung haben.

Interessant ist es mir, dass jetzt Emmerich und Löw (1899) angeben, dass die Lösung der Bacterien in der Kolonie durch ein besonderes Enzym erfolge. Wichtig würde eine Untersuchung des Verhaltens des Fettes der todten Bacterien in den Kolonien sein.

Marburg, den 5. September 1899.

Botanisches Institut der Universität.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05155-00469-1

Tafelerklärung.

Vergrösserung 3500fach, mit Ausnahme der Figuren 63—68.

Fig. 1. Schwärmoidie aus einer eben gekeimten, neun Stunden alten Agarcultur, die mit abgekochten Sporen angesetzt worden war, von B. asterosporus.

„ 2. Schwärmoidie aus derselben Cultur, nach 20 Stunden.

„ 3. Geisselpräparat von B. Proteus Zopfii mit basaler Verquellung der Geisseln.

„ 4. Schwärmoidie von B. tumescens mit relativ wenig Geisseln, aus zwölf Stunden alter Cultur.

„ 5. Sporangienfaden von B. subtilis; Sporen in verschiedenen Entwickelungsstadien.

„ 6. Reife Spore von B. subtilis.

„ 7—12. Entwickelungsstadien eines fortgesetzt beobachteten Sporangiums von B. tumescens. $7 = 9^h 10$, $8 = 10^h 30$, $9 = 11^h$, $10 = 1^h 30$, $11 = 2^h 40$, $12 = 6^h$. Tiefe Einstellung.

„ 13—15. Drei Entwickelungsstadien eines in der Sporenbildung fortgeschrittenen Sporangiums von B. tumescens. $13 = 9^h 45$, $14 = 10^h$, $3 - 12^h$, $15 = 6^h 30$, Tiefe Einstellung.

„ 16—22. Verschiedene Sporangien von B. tumescens, alle bei tiefer Einstellung, so dass das schwach Lichtbrechende hell erscheint.

„ 23. Sporangienfaden von B. subtilis, mittelst Jod gefärbt.

„ 24. Junge Schwärmoide von Granulobacter mit viel Jod gefärbt.

„ 25. Sporangium von Granulobacter mit Sporenvacuole, mit viel Jod behandelt.

„ 26. Sporangium von Granulobacter, mit sehr wenig Jod behandelt.

„ 27. Sporangium von Granulobacter, erst mit Diastase, dann mit Jod behandelt.

„ 28. Sporangium von Granulobacter, mit nicht völlig reifer Spore, durch Jod gefärbt.

„ 29. Sporangium von Granulobacter, mit völlig reifer Spore und vacuoligen trophischen Abschnitten des Cytoplasmas.

„ 30 und 31. Sporangien von Granulobacter, zur Lösung der Kohlenhydrate erst mit Speichel behandelt, dann mit Jod gefärbt. Der Speichel hatte unnöthig lange (68 Stunden) eingewirkt.

„ 32. Angeschwollene Oidie von B. tumescens aus alter Cultur, mit fünf durch Methylenblau gefärbten Kernen und den farblosen Fetttropfen.

„ 33. Sporen von B. tumescens mit Spitzen an der Membran.

„ 34. Spore im Querschnitte, mit Safranin gefärbt.

„ 35. Spore vor der Keimung, mit Kern; Formolfuchsin.

„ 36. Gekeimte Spore mit zweistäbigem Keimfaden; Formolfuchsin.

„ 37. Fettfreie Schwärmoidien mit sechs Kernen; Formolfuchsin.

„ 38. Zweistäbiges, fettführendes Schwärmoidium, dessen Stäbchen in Theilung eintreten; Formolfuchsingelb, *t* anscheinend in Theilung begriffener Kern.

„ 39 und 40. Viel Fett führende Oidien und kurzer Zellfaden in schneller Theilung begriffen; Formalfuchsinessigsäuregelb.

„ 41a und 42. Sporangien mit beginnender Sporenvacuole; Formolfuchsingelb.

„ 43. Sporangium mit grossem fertilen Abschnitte, in diesem der Kern *a* in der Sporenvacuole liegend, während der schwächer gefärbte Kern *b*, der nur bei hoher Einstellung sichtbar ist, im Cytoplasma liegt; Formolfuchsingelb.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05155-00470-2

Fig. 44. Sporangium mit einem grossen Kern inmitten der Sporenanlage, mit einem kleinen im trophischen Abschnitte des Protoplasten; Formolfuchsingelb.
„ 45. Sporangium mit abgegliederter Spore, in welchem kein Kern hervorgetreten war; Formolfuchsingelb.
„ 46. Sporangium mit schon behäuteter Spore und einem Kerne.
„ 47. Sporangien mit Kernen. Der Kern *a* liegt in der Peripherie der Sporenvacuole; der scheinbar im Centrum liegende Kern war nur bei sehr hoher Einstellung sichtbar und lag wohl im Cytoplasma des Sporangiums.
„ 48. Lebender Doppelschwärmer aus zwölfstündiger Agarcultur.
„ 49. Junges Schwärmoidium aus dem Kondenswasser einer zwölf Stunden alten Agarcultur; Formolmethylenblau-Sudan; Fett roth, Cytoplasma blau; ebenfalls von B. tumescens.
„ 50. Sporangium mit blau gefärbter Sporenanlage an der Spitze und einem blau gefärbten Zellkern; Formolmethylenblau-Sudan.
„ 51. Sporangium mit eben behäuteter Spore.
„ 52. Sporangium mit fast fertiger Spore.
„ 53. In Auflösung begriffenes Oidium, dessen Cytoplasma schon gelöst, dessen Fett noch erhalten ist; ebenfalls Formolmethylenblau-Sudan.
„ 54. Fettführendes Schwärmoidium nach Lösung des Fettes durch Eisessig.
„ 55. In Formolmethylenblau-Sudan zerquetschte Spore, aus welcher der Protoplast theilweise herausgetreten ist.
„ 56. Mit contrahirtem Protoplasten versehenes Oidium, mit sorgfältigst in ihrer Dicke wiedergegebener Membran; ebenfalls von B. tumescens.
„ 57—62. Schwärmer und Sporangien von B. asterosporus, mit Formolfuchsin gefärbt, zur Demonstration der Zellkerne.
„ 63. Sporangienkette von B. tumescens aus einer bei 28° C. gehaltenen Agartropfencultur der feuchten Kammer.
„ 64. Zellfäden aus vierlangen Stäbchen mit ein bis zwei Sporen.
„ 65. und 66. Zellfäden von B. tumescens aus der gleichen Kultur, welche einzeln lagen und in sich den Chlamydosporen ähnliche, jedoch nur kräftige Oidien vorstellende Zellen ausbildeten, während die Mehrzahl der Zellen in Lösung ging. In Fig. 23 eine Spore.
„ 67. Langer Zellfaden von B. tumescens mit Sporen, Sporangienfaden, aus der gleichen Tropfencultur.
„ 68. Angeschwollener kurzer Zellfaden aus der gleichen Tropfencultur. Es sind dies relativ spät in der Cultur entstandene Zellfäden, welche also von den Excreten der Vorgänger schon beeinflusst sind.

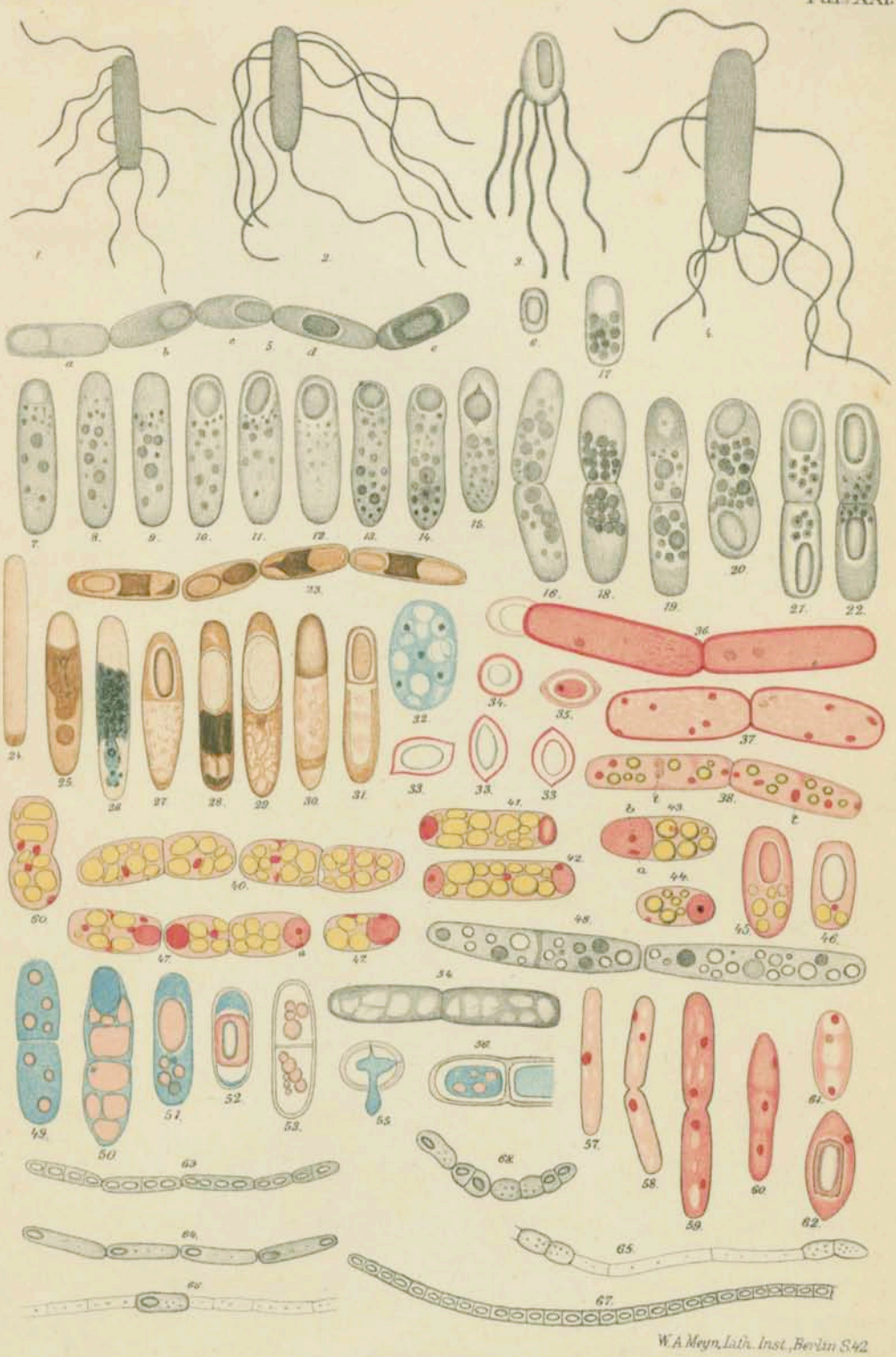
Litteratur.

Aronson, Zur Biologie der Tuberkelbacillen. Berliner Klinische Wochenschrift 1898, Nr. 22, S. 484.
A. de Bary, Vergleichende Morphologie und Biologie der Pilze, Leipzig 1884.
A. de Bary, Ueber die Fruchtentwickelung der Ascomyceten, Leipzig, Engelmann, 1863.
Dietrich Barfurth, Vergleichende histochemische Untersuchungen über das Glycogen; Archiv für mikroskopische Anatomie 1895, 25. Bd., Seite 259.
Beijerinck, Ueber die Butylalkoholgährung und das Butylferment; Verh. d. Koninkl. Akademie van Wetenschappen te Amsterdam, Tweede Sectie, Deel I. Nr. 10, 1893.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05155-00471-8

Brefeld, Botanische Untersuchungen über Schimmelpilze, Leipzig **1881**, Heft 4, S. 36.
— — Untersuchungen aus dem Gesammtgebiete der Mycologie, Heft VIII, **1889**.
Burchhard, Georg, Beiträge zur Morphologie und Entwickelungsgeschichte der Bacterien; Arbeiten aus dem Bacteriologischen Institute der technischen Hochschule zu Karlsruhe, II. Bd., Heft 1, **1898**. Verlag von Otto Nemnich.
Clautriau, Étude chimique du Glycogène chez les Champignons et les Levures; Memoires de l'Academie royale de Belgique, tome 53, **1895**.
Cremer, M., Demonstration des Hefeglycogens in den Zellen und als Präparat; Münchener medic. Wochenschrift **1894**, S. 825.
Emmerich, R. und Löw, Osk., Bacteriologische Enzyme als Ursache der erworbenen Immunität und die Heilung von Infectionskrankheiten durch dieselben; Zeitschrift für Hygiene und Infectionskrankheiten **1899**, S. 1.
Engler, Syllabus der Pflanzenfamilien, Berlin **1898**.
Errera, L'Epiplasma des Ascomycètes et le Glycogène des végetaux; Thèse, Bruxelles **1882**.
Fischer, Alfred, Untersuchungen über Bacterien; Pringsheims Jahrbücher **1895**, S. 103.
— — Untersuchungen über den Bau der Cyanophyceen und Bacterien, Jena **1897** *a*.
— — Vorlesungen über Bacterien, Jena **1897** *b*.
Klebs, Ueber heilende und immunisirende Substanzen aus Tuberkelbacillenculturen; Centralblatt für Bacteriologie, 1. Abth. Bd. 20, **1896**, S. 500.
Koch, Alfred, Ueber Morphologie und Entwickelungsgeschichte einiger endosporer Bacterienformen; Bot. Zeitung **1888**, Nr. 18, S. 277.
— R., Ueber neue Tuberkulinpräparate; Deutsche med. Wochenschrift **1897**.
Külz, Ueber das Drehungsvermögen des Glycogens; Berichte der Deutsch. chem. Ges. 14, **1889**, S. 371.
Meyer, Arthur, Untersuchungen über die Stärkekörner, Jena **1895**, Fischer.
— — Neues über die Morphologie der Bacterienzelle und die Entwickelungsgeschichte der Bacteriensporen; Sitzungsberichte der Gesellschaft der gesammten Naturwissenschaften zu Marburg **1897** *a*, Nr. 5, Juli.
— — Studien über die Morphologie und Entwickelungsgeschichte der Bacterien, ausgeführt an Astasia asterospora A. M. und Bacillus tumescens Zopf. Flora, Erg.-Bd. **1897** b, 84. Bd., Heft 3, S 185.
— — Erstes mikroskopisches Prakticum, Jena **1898**.
Migula, System der Bacterien, 1. Band, **1897**; Fischer, Jena.
— — Weitere Untersuchungen über Astasia asterospora, Meyer; Flora **1898**, S. 141.
Ruppel, W. G., Zur Chemie der Tuberkelbacillen; Hoppe-Seylers Zeitschrift für physiologische Chemie **1898**, S. 218.
Schweinitz de and Dorset, Further Notes upon the Fats contained in the Tuberculosis Bacilli; Centralblatt für Bacteriologie, 1. Abth., Bd. 19, **1896**, S. 707.
Tavel, Vergleichende Morphologie der Pilze, Jena **1892**.
Tieghem, van, Sur le Bacillus Amylobacter et son Role dans la putrefaction des tissus végétaux; Bulletins de la Société bot. de France, tom 24, **1897**, pag. 128.
— — Identité du Bacillus Amylobacter et du Vibrion butyrique de M. Pasteur, Comptes rendus, tom 89, **1879** *a*, pag. 1.
Tieghem, van, Développement du Spirillum amyliferum; Bullet. de la Soc. bot. de France tom. 26, **1879** *b*, pag. 65.
Trécul, Matière amylacée et cryptogames amylifères dans les vaissaux du latex de plusieurs Apocynées; Comptes rendus **1865**, 61, pag. 156.
— — Production de plantules amylifères dans les cellules végétales pendant la putréfaction **1865**, 61, pag. 432.
Zimmermann, A., Die Morphologie und Physiologie des pflanzlichen Zellkernes, Jena **1896**.
Zopf, Die Spaltpilze, **1885**.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05155-00472-4



W. A. Meyn, Lith. Inst., Berlin S. 42.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05155-00513-1

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Flora oder Allgemeine Botanische Zeitung

Jahr/Year: 1899

Band/Volume: 86

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

Artikel/Article: Ueber Geisseln, Reservestoffe, Kerne und Sporenbildung der Bacterien. 428-468