Studien über die Morphologie und Entwickelungsgeschichte der Bacterien, ausgeführt an Astasia asterospora A. M. und Bacillus tumescens Zopf.

Von
Professor **Arthur Meyer** in Marburg.

Hierzu Tafel VI.

I. Astasia asterospora A. M.

Die Unklarheit, welche trotz der wieder in den letzten Jahren von zoologischer und botanischer Seite unternommenen wichtigen Untersuchungen bezüglich der Morphologie der Bacterienzelle noch herrschte, und die biologische Wichtigkeit der Frage, ob Zellen existenzfähig sind, denen der Zellkern oder das Cytoplasma fehlt, veranlasste mich zum sorgfältigen Studium von zwei typischen Bacterien, vorzüglich von Astasia. Die Untersuchung hat mir wegen der Kleinheit der Objecte viele Schwierigkeiten gemacht und relativ viel Zeit gekostet, obgleich ich mit der Beobachtung sehr kleiner Objecte wohl vertraut bin, und ich habe erst bei dieser Aufgabe die unübertroffene Leistungsfähigkeit des Zeiss'schen homogenen Apochromate und Compensationsoculare recht würdigen gelernt, durch deren Hilfe ich allein im Stande war, zu einer mich befriedigenden Sicherheit in der Zellkernfrage zu gelangen. Vergleicht man die Bacterienzellkerne in Fig. 28 mit dem bei gleicher Vergrösserung dargestellten Umrisse des Zellkernes von Ornithogalum, so wird man zu einer richtigen Beurtheilung der Kleinheit der Objecte geführt, von denen in dieser Arbeit die Rede ist. Ich konnte bei Astasia manche morphologische Feinheiten nur bei dem günstigsten Tageslichte erkennen, musste oft die Untersuchungen wegen zu schlechten Lichtes aussetzen und oft durch Nachprüfung Zweifel an der Richtigkeit des unter besonders günstigen Umständen Beobachteten, bei schlechter Beleuchtung nicht Erkennbaren, zerstreuen. Jetzt glaube ich, dass ich das Gesehene richtig gedeutet habe, und bin der Ueberzeugung, dass fernere Untersuchungen anderer Bacterienspecies meine Angaben bestätigen werden. Wenn ich auch nicht annehme, dass die von mir untersuchten Objecte die günstigsten sind, habe ich doch, um die Nachuntersuchung derselben zu erleichtern, die beiden Species an die Firmen Grübler & Co. in Leipzig (Inh.: Dr. K. Hollborn), und an Král's Bacteriologisches Laboratorium, Prag I, kleiner Ring 11, abgegeben, von wo aus die-

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05158-0191-3

selben bezogen werden können. Sollte das bezogene Material meinen Angaben einmal nicht entsprechen, so bin ich zur Prüfung desselben gern bereit.

Ich beginne meine Mittheilung mit der Schilderung von Astasia asterospora und werde daran eine Reihe von allgemeinen Bemerkungen über die Bacterien und die Besprechung von Bacterium tumescens anschliessen.

1. Cultur der Astasia asterospora.

Die Astasia wurde auf einer Möhre gefunden, welche gereinigt, abgekocht und unter eine Glasglocke gelegt worden war. Sie wurde mittelst der Plattenmethode rein gezüchtet und wieder auf sterile Möhrenscheiben übergeimpft. Als Ausgangspunkt dienten für alle Culturen etwa 20 Tage alte Sporen, welche vor der Aussaat drei Minuten auf 90° erhitzt worden waren, um vegetative Formen abzutödten. Diese Sporen ertragen ein einstündiges Erhitzen mit der Nährlösung, ohne abzusterben, doch keimen sie nach so langer Erhitzung anscheinend langsamer.

Cultur auf Möhrenscheiben und anderen festen Nährböden. Impft man mit dem reinen Sporenmateriale sterile, abgekochte Mohrrübenscheiben, so entwickelt sich, bei Zimmertemperatur, an der Impfstelle ein graues, glasiges Gallerthäufchen, welches sich ausbreitet, so dass nach 5 Tagen die Scheibe von einem dünnen Gallertbelage bedeckt ist, in dem weiter Gasblasen auftreten, wodurch die Culturen ein mehr weissliches Aussehen annehmen. Der Spaltpilz löst die Mittellamellen der Zellen, so dass die Möhrenscheibe nach und nach erweicht. Bemerkenswerth ist es, dass die Cultur stets einen angenehmen Geruch behält. In der Cultur findet man schon nach fünf Tagen Sporen, neben diesen stets Ruhestäbchen und Schwärmstäbchen.

Mit dextrosehaltigem Nähragar angelegte Stichculturen zeigten schon nach drei Tagen im Stichkanale eine gleichmässige Entwickelung des Spaltpilzes, die aber nachher nur weiter oberflächlich stattfand. Auf der Oberfläche des Agars entstand ein mit flachen, concentrischen Ringwällen besetzter kleiner, gelblicher Hügel. Die Stichcultur in dextrosehaltiger Nährgelatine zeigte schon nach zwei Tagen drei Viertel des Stichkanales in Verflüssigung begriffen, dabei war letzterer unregelmässig trichterförmig, und es bildeten sich in ihm Gasblasen.

Cultur in Nährlösungen. Von Nährlösungen wurden vorzüglich zwei Arten verwandt. Die erste, welche ich als Normallösung bezeichnen will, bestand aus 1 g Fleischextract, 1 g Pepton, 1 g Rohrzucker, 100 g Wasser. Die zweite, welche als Asparagin-

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05158-0192-9

lösung kurz bezeichnet sein mag, wurde folgendermaassen bereitet: Magnesiumsulfat, Kochsalz, Kaliumphosphat, von jedem 1 g auf 100 ccm gelöst, erhitzt, neutralisirt mit Natriumcarbonat, aufgekocht, filtrirt, auf 100 ccm ergänzt. 5 ccm dieser Lösung, 1 g Asparagin, 2 g Rohrzucker, 92 ccm Wasser setzten die eigentliche Nährlösung zusammen. Die dritte Lösung bestand aus 1 g Fleischextract, 1 g Pepton und 98 g Wasser und soll als Fleischextract-Peptonlösung bezeichnet werden. Alle Culturen in diesen flüssigen Nährlösungen wurden, wenn nichts anderes bemerkt ist, bei 28—30° C. gehalten.

Werden 5 ccm Normallösung mit etwas Sporenmaterial geimpft, so findet man schon nach 6 Stunden keimende Sporen, nach 14—18 Stunden zahlreiche Schwärmstäbchen und nur solche in der Lösung. Eine Cultur, welche man Abends 6 Uhr ansetzt, ist also am anderen Morgen um 10 Uhr schwach durch Schwärmer getrübt und zur Beobachtung von letzteren geeignet. In einer Cultur, welche 23—24 Stunden alt ist, sieht man in der stark trüben Nährlösung neben vielen Schwärmern jetzt kleine Häufchen von ruhenden Stäbchen, die jedoch noch nirgends zur Sporenbildung schreiten; zugleich bemerkt man schwache Gasentwickelung. Weiter nimmt die Gasentwickelung zu, die Stäbchenhaufen vergrössern sich zu schleimigen Flocken, welche sich, durch Gasblasen getragen, auf der Oberfläche der Cultur ansammeln. Meist ist weiter schon nach 50 Stunden die Gasentwickelung beendet, die Schleimflocken haben sich zu Boden gesenkt, und überall finden sich, neben Schwärmern und ruhenden Stäbchen, Stäbchen, die Sporen in sich zu entwickeln beginnen. Nach 60 Stunden sind schon freie, reife Sporen zu finden, die dann hauptsächlich am Boden liegen, und nach ungefähr vier Tagen ist die Nährlösung erschöpft.

Also sind in Normallösung (bei 28°) auf dem Höhepunkte ihrer Entwickelung zu finden:

nach	14—18	Stunden	Schwärmer,
„	24	„	Ruhezustände,
„	48	„	Sporenbildung,
„	64	„	isolirte Sporen.

In 5 ccm Asparaginlösung geht die Entwickelung anfangs meist langsamer und im Allgemeinen unregelmässiger vor sich, dann aber tritt schnell starke Schleimbildung nebst allen oben beschriebenen Erscheinungen ein, so dass nach 50 Stunden schon junge Sporen, nach 65 Stunden schon freie Sporen zu finden sind. Auffallend ist es, dass die ganze Flüssigkeit zuletzt homogen schleimig und trübe erscheinen kann.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05158-0193-5

In der Fleischextract-Peptonlösung sind die Schwärmer erst nach 16—20 Stunden zahlreicher zu finden; es dauert aber dann die lebhafte Bildung neuer Schwärmer bis ungefähr zu 40 Stunden an. Im Allgemeinen ist die Entwickelung des Spaltpilzes in dieser Lösung des weiteren schwächer und langsamer. Auffallende Schleimbildung tritt ebenso wenig ein wie Gasentwickelung. Nach 60 Stunden sind die Stäbchen teilweise in Sporenbildung. Nach vier Tagen ist die Nährlösung noch nicht erschöpft. Aehnlich verhalten sich die Culturen in 1proc. Fleischextractlösung.

Einige weitere physiologische Kennzeichen der Species. Die Gasentwickelung. Im Gährkölbchen entwickelt der Spaltpilz in Normallösung schon am ersten Tage Gas, und zwar scheint es, als begänne die Gasentwickelung nicht während der Zeit, in welcher nur Schwärmer in der Flüssigkeit vorhanden sind. In 10 ccm Normallösung wird, nachdem die Colonienbildung begonnen hat, täglich ungefähr 1 ccm Gas entwickelt; am fünften Tage erlischt die Gasbildung. Die Untersuchung des Gasgemenges zeigte, dass es 25—60 % Kohlensäure enthält, und dass der Rest ein brennbares Gas, hauptsächlich also Wasserstoff ist. Auf N wurde nicht geprüft.

Astasia scheidet kein Ferment aus, welches Rohrzucker invertirt, denn sowohl alte wie junge Culturen in Normallösung gaben mit Fehling's Lösung keine Reduction. Dennoch wächst der Spaltpilz besser in rohrzuckerhaltiger Nährlösung als in dem Peptonfleischextract; er verhält sich also wie B. vernicosum von Zopf (1892, S. 93). Auch ein diastatisches Ferment liess sich in vier Tage alten Normalculturen in folgender Weise nicht nachweisen. Eine Cultur wurde in zwei Theile getheilt; der eine Theil wurde aufgekocht, der andere nicht aufgekocht, aber mit einigen Tropfen Chloroform versetzt. Beide wurden mit ganz wenig Stärkekleister versetzt, bei 28° stehen gelassen und nach 24 Stunden untersucht. Beide Culturen zeigten bei vorsichtigem, tropfenweisem Zusatze von Jodjodkaliumlösung die gleiche intensive Blaufärbung wie vor dem Stehenlassen. Da die Mittellamellen der Möhrenzellen durch die Thätigkeit des Spaltpilzes gelöst werden, so ist immerhin zu vermuthen, dass sie ein für diesen Zweck bestimmtes Enzym ausscheiden, doch wurde dasselbe nicht nachgewiesen.

Säurebildung. Der Spaltpilz erzeugt in Normallösung ziemlich viel Säure. 100 ccm einer alten Cultur erforderten zur Neutralisation 1,5 ccm Normalkali; in Asparaginlösung wird bedeutend weniger Säure gebildet. Die Asparaginlösung entwickelt beim Kochen Dämpfe, die angenehm alkoholisch riechen.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05158-0194-1

2. Die Entwickelungsgeschichte und Morphologie von Astasia asterospora.

Ehe ich auf die speciellere Schilderung der Morphologie der Species eingehe, will ich einen kurzen Ueberblick über deren Entwickelungsgeschichte geben. Die Spore der Pflanze keimt in Normallösung, bei 30° nach ungefähr 6 Stunden. Aus der Spore tritt ein Stäbchen hervor, welches sofort beweglich ist, ein Schwärmer. Aus diesem gehen bald, wesentlich durch fortgesetzte Zweitheilung, weitere einzellige Schwärmer hervor. Nach einiger Zeit, bei Benutzung von 5 ccm Normallösung ungefähr nach 12 Stunden, beginnen einzelne dieser Schwärmer in den Ruhezustand überzugehen und Gallerte auszuscheiden. Geschieht dieses in Flüssigkeit, so sieht man auf ein solches Stäbchen zahlreiche Schwärmer zuschwimmen, das Stäbchen wieder verlassen, sich ihm wieder nähern und dieses Spiel so lange fortsetzen, bis sie sich neben ihm zur Ruhe begeben. Es entstehen so kleine, runde Colonien (Fig. 25), die nach 20—24 Stunden schon reichlich gebildet sein können und, da sie Gasblasen entwickeln, bald in der Flüssigkeit hochsteigen, sich an einander legen und Schleimflocken bilden. In diesen Schleimflocken spielt sich nun die weitere Entwickelung der Stäbchen ab.

Auf feuchtem, festem Substrate verläuft der Prozess in gleicher Weise, nur bleiben die zuerst entstehenden kleinen Colonien dann liegen und verschmelzen durch Wachsthum mit einander zu den schleimigen Ueberzügen der Substrate, in denen die Entwickelung der Stäbchen ebenfalls in der gleich zu beschreibenden Art weiter schreitet.

Die Stäbchen theilen sich mehr oder weniger lebhaft. Selten entstehen durch diese Theilungen kurze Zellfäden, die mit einer festeren Schleimhülle umgeben sind, meist zerfällt jedes Stäbchen sehr bald nach der Theilung in zwei, und die Theilprodukte rücken von einander mehr oder weniger weg, so dass normaler Weise einzellige Stäbchen und solche, die in Zweitheilung begriffen sind, in der Schleimmasse liegen. Durch diesen Process werden die Schleimcolonien schnell vergrössert.

Nach einiger Zeit beginnen nun einzelne dieser Stäbchen mit der Bildung von Endosporen, werden zu Sporangien, und bald folgen viele andere nach. Die Stäbchen schwellen dabei mehr spindelförmig an, und jedes erzeugt normaler Weise eine einzige Spore, die schliesslich durch Zerfall des Stäbchens frei wird. Im Allgemeinen dauert die Entwickelung der Spore vom Beginn der ersten Andeutung der Sporenbildung im Ruhestäbchen bis zum Freiwerden derselben etwa 40—46 Stunden. Viele Ruhestäbchen kommen nicht zur Sporen-

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05158-0195-6

bildung, sondern sterben ab; ihre eigenthümlichen Reste bleiben einige Zeit im Schleime liegen.

In der Cultur der Astasia in Flüssigkeit findet man bis zur Erschöpfung des Nährbodens immer einzelne Schwärmstäbchen und ruhende Stäbchen. Ist der flüssige Nährboden erschöpft, so findet sich in der klaren Flüssigkeit ein Bodensatz von Sporen. In alten Culturen auf Möhren sieht man, bis die Möhren aufgefressen sind, ebenfalls an einzelnen Stellen, vorzüglich am Rande, stets Schwärmer, Ruhestäbchen, Sporangien und Sporen in allen Stadien der Entwickelung und darunter meist lange Fadenstäbe, wie ich sie später beschreiben werde, und wie sie auch in den Flüssigkeiten bisweilen reichlicher auftreten.

3. Die Sporen.

Zur Untersuchung sind gut ausgereifte Sporen aus älteren Möhrenculturen oder aus Culturen in Normallösung benutzt worden, welche die eigenthümliche Struktur der Sporenmembran vortrefflich zeigen. Die Membran der Spore ist nämlich nicht glatt, sondern, wie Fig. 1 darstellen soll, mit 10 Leisten versehen, welche über die Längsseite hinziehen und noch etwas über die Endflächen der cylindrischen Spore hinübergreifen. Die Leisten sind meist glatt, nur selten scheinen sie auch noch kleine Hervorragungen zu besitzen, wie sie in Fig. 3 dargestellt sind. Die Leisten werden von der gelblichen Exine (α) gebildet, während die Intine der Sporenmembran farblos und schwach lichtbrechend ist. In der Spore liegt ein glattes, stark lichtbrechendes Stäbchen, welches bei der Keimung eine besondere Membran bildet, vielleicht sie schon in der Spore besitzt.

Die Spore sieht, im Wasser liegend, so aus, wie es Fig. 2 darstellt. Die Sternform des aufrecht stehenden Stäbchens könnte immerhin auf einer Faltung der Membran beruhen, und die helle Partie zwischen Stäbchen und gelber Exine könnte ein Hohlraum sein. Dagegen sprechen aber die Bilder, welche man bei Anwendung von Reagentien erhält. Färbt man die Sporen mit einer Spur von conc. Jodjodkaliumlösung (3 + 3 + 20) an, setzt dann Chloraljod hinzu und lässt eine Stunde einwirken, so erscheint die Exine gelb, ebenso das Stäbchen, und die ganze Spore quillt etwas heran. Trotzdem sieht man jetzt noch die Streifen, welche den Leisten entsprechen, bei hoher Einstellung, auf der Längswand. Behandelt man die Sporen mit conc. Schwefelsäure, so werden sie ellipsoidisch (Fig. 4) und schwellen an, trotzdem sieht man an ihnen die Leisten noch, ein sicheres Zeichen, dass es sich hier nicht um Falten der Membran

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05158-0196-2

handelt. Färbt man mit conc. Jodkaliumlösung, die man seitlich zu den im Wasser liegenden Sporen zutreten lässt, so färbt sich die Exine am dunkelsten, das Stäbchen anfangs heller als die Exine, oft mit einer dunklen Linie an der Aussengrenze des Stäbchens (Fig. 7), dann dunkler als die Intine. Setzt man zu mit Jodjodkalium angefärbten Sporen Chlorzinkjodlösung hinzu, so kann man häufig das Stäbchen fast verschwinden sehen, indem es sich nicht färbt und relativ schwach lichtbrechend erscheint, während Exine und Intine sich braun färben und so beide zur Anschauung gelangen. Die Membran erscheint dann sehr dick, eben so dick wie bei der Keimung der Spore; ist zu viel Jod zugesetzt, dann färbt sich die ganze Spore allerdings tief braun. Damit ist bewiesen, dass die farblose Schicht zur Membran gehört. Für das Vorhandensein einer besonderen Stäbchenmembran spricht auch die Färbung, welche man erhält, wenn man Sporen einen Tag in Chloralcarmin liegen lässt. Dieser färbt Sporenmembran und Stäbchen schwach, doch zeigt letzteres meist eine dunkle Contur.

Gegen Chromsäure verhält sich die Membran der Spore recht widerstandsfähig. Legt man die Sporen in Eisessig, so tritt die Struktur der Membran scharf hervor; setzt man dann Chromsäure hinzu, so quellen die Sporen, bleiben aber selbst 24 Stunden lang noch erhalten, werden nur durchsichtiger, während die Membran der noch unreife Sporen enthaltenden Sporangien gelöst wird.

Was die Färbung mit Farbstoffen betrifft, so färbt zuerst alkoholisches Rutheniumroth die Sporen sehr schön und zwar färbt sich zuerst die Exine, erst später auch das Stäbchen. Alkoholisches Safranin (0,1, Alkohol und Wasser ca. 50) färbt die Sporen noch intensiver, wenn man sie lebend in die Lösung einträgt; besonders intensiv färbt sich die Exine um die Peripherie des Stäbchens.

Delafield'sches Hämatoxylin färbt in concentrirtem Zustande die Membran höchst intensiv blau, wenn es zwei Stunden auf die lebenden Sporen einwirkt. Färbt man die todten Sporen in der später bei den Schwärmstäbchen angegebenen Weise nach Heidenhain, so findet man in manchen Fällen nur die Sporenmembran intensiv gefärbt, manchmal die Sporenmembran dunkel, dann eine Zone farblos, das Stäbchen heller. Besonders erwähnenswerth scheint es mir zu sein, dass nicht selten die Höhlung, welche häufig durch starkes Eintrocknen des Stäbchens zwischen Membran und Stäbchen entsteht, besonders intensiv gefärbt erscheint. In Fig. 6 ist ein solcher Fall dargestellt, der sich nur so erklärt, dass der Farbstoff in diese Höhlung

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05158-0197-8

eindringt, dort niedergeschlagen wird und dann langsamer durch das Differenzirungsmittel gelöst wird als die kleinere Menge des in die Membran eingedrungenen Farbstoffes. Ein besonderes Interesse besitzt wohl das Verhalten der Sporen gegen Carbolfuchsin bei der allgemein angewandten Methode der Bacteriologen. Bei dieser Methode werden die am Deckglas angetrockneten Sporen 3—10mal durch die Flamme gezogen, um sie zu tödten und festzulegen. Bei dieser Fixirung schrumpfen die Sporen stark zusammen, wie durch Vergleich der Fig. 7 *b*, der zweimal durch die Flamme gezogenen Spore 5 *a* und der zehnmal schnell durch die Flamme gezogenen Spore 5 *c* hervorgeht. Zugleich wird die Struktur der Spore so weit zerstört, dass nur an einzelnen Exemplaren der gefärbten Sporen noch deutliche Spuren der Leisten zu sehen sind. Bei kurzer Behandlung der Sporen mit Carbolfuchsin und schnellem Abspülen mit Salzsäurealkohol 20 (20 g Salzsäure, 100 ccm Alkohol, 200 ccm Wasser) erhält man die Sporen so intensiv gefärbt wie die Schwärmer, und zwar findet man, dass die Membran, vorzüglich die Exine, am intensivsten, das Stäbchen in der Spore kaum gefärbt ist. Zwei Minuten mit Carbolfuchsin gefärbte Sporen sehen dann aus wie Fig. 5 *a*. Behandelt man die so gefärbten Sporen mit Salzsäurealkohol 20, so werden sie ebenso schnell entfärbt wie die Schwärmer. Das gleiche Ansehen zeigen mit Methylenblau in gleicher Weise direct gefärbte Sporen. Will man in einer Mischung von Sporen und Schwärmern die Sporen allein gefärbt behalten, so muss man die Sporen so lange mit Carbolfuchsin erhitzen, bis der Farbstoff auch das Stäbchen in der Spore intensiv gefärbt hat und dann schnell mit stärker saurem Salzsäurealkohol 40 (40 Tropfen Salzsäure, 200 ccm Wasser, 100 ccm Alkokol) abwaschen. Es genügt, die Sporen 30 Minuten auf dem Wasserbade in der Carbolfuchsinlösung zu erwärmen, dann schnell mit Salzsäurealkohol 40 abzuspülen. Jetzt färbt sich also zuerst die ganze Spore, die Membran aber gibt bei der Differenzirung zuerst den Farbstoff ab, dem gefärbten Stäbchen so lange Schutz gewährend, bis die Schwärmer entfärbt sind. Man sieht also jetzt in den Präparaten nicht mehr die ganze Spore, sondern nur das Stäbchen, welches in ihr liegt (Fig. 5 *b*). Färbt man jetzt mit Methylenblau (1 conc. alkoholische Lösung 10 Wasser) nach, so färbt sich die Membran wieder blau, wie man vorzüglich auch an dem Hervortreten einzelner Spitzen an den Sporen, dann aber auch an den hinzugekommenen blauen Hüllen erkennen kann (Fig. 5 *c*). Behandelt man mit Carbolfuchsin 30 Minuten gefärbte Stäbchen mit Salzsäurealkohol 20, so wird meist der Farbstoff aus der Spore mit dem Farbstoff aus dem Schwärmer gleich-

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05158-0198-4

zeitig entfernt, da die dünne Salzsäure längere Zeit einwirken muss, und so Zeit gewinnt, bis in das Innere der Spore einzudringen. Aus diesem Grunde wirkt wohl auch eine Mischung von 40 Tropfen Salzsäure und 300 ccm Wasser viel schlechter differenzirend als verdünnter Alkohol.

Die Keimung der Sporen. Die Keimung der Sporen wurde in einem Hängetropfen von Normallösung vor sich gehen gelassen. Die Präparate wurden zuerst vier Stunden im Brutschranke bei 28° belassen, das heisst, bis die erste Keimung beobachtet werden konnte, dann wurde die Beobachtung bei Zimmertemperatur an anderen Sporen durchgeführt. Die meisten Sporen keimten dann in der Zeit zwischen der fünften und achten Stunde.

Vor der Keimung schwellen die Sporen an, wie das aus Vergleich der Figuren 2, 3, 4 und 8 schon hervorgeht. Die Membran wird mehr und mehr gedehnt, schliesslich reisst sie an einem Pole der Spore auf und entlässt das Stäbchen.

Das Herausschlüpfen des Stäbchens, welches nach dem Heraustreten anfangs kaum länger und eben so dick wie die Spore erscheint, kann mit einem Rucke erfolgen (Fig. 8 *a*); es kann aber auch das Stäbchen bei der Geburt nur wenig aus der Spore heraussehen, dann weiter heranwachsen und hierauf erst heraustreten, wobei allerdings dann meist auch noch ein Herausschnellen des Stäbchens stattfindet (Fig. 8 *b* und *c*). Häufig bleibt die Sporenmembran noch eine Zeit lang, anscheinend durch ein Schleimfädchen, mit dem geborenen Stäbchen in Verbindung, so dass z. B. die Sporenmembran am Boden liegen und das Stäbchen, daran verankert, darüber schweben kann, oder dass auch die Membran von dem forteilenden Stäbchen anfangs nachgeschleppt werden kann. Bei Sporen, welche noch nicht ganz aus der Membran herausgetreten waren, habe ich einigemale ein äusserst feines Fädchen gesehen, welches an der Innenwand der Membran und am hinteren Ende des Stäbchens angeheftet zu sein schien.

Die aus der Spore herausschlüpfenden Stäbchen beginnen fast sofort sich zu bewegen, erzeugen also sofort Geisseln, werden zu Schwärmern.

In einem Falle, in welchem die Spore in viel Nährlösung schwamm, wurde ein halb aus der Spore herausgetretenes Stäbchen nach 15 Minuten herausgestossen, lag dann ruhig quer vor der Austrittsstelle, bewegte sich schon drei Minuten nach der Geburt ein wenig, aber schon fünf Minuten nach der Geburt schwamm es davon, indem es zugleich die Sporenmembran nachschleppte.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05158-0199-2

4. Die Schwärmer.

Die Weiterentwickelung der Schwärmer im Hängetropfen zeigt, dass sich die Schwärmer fortwährend durch Theilung vermehren und während ungefähr 24 Stunden so fortgesetzt Schwärmer allein bilden. Bei kleinen Tropfen eher, bei grösseren etwa nach dieser Zeit, sieht man schon die Schwärmer sich zu Häufchen sammeln und in den Ruhezustand übergehen. Zur Züchtung von Beobachtungsmaterial benutzt man Normallösung und eine Temperatur von 28°. Man findet dann ungefähr 16—18 Stunden nach der Impfung reichliches reines Material von Schwärmern.

Es ist also sicher, dass, wenn genügend Nährflüssigkeit vorhanden ist, die Schwärmer mindestens 10 Stunden lang nur in Schwärmer zerfallen, und dass auch die ältesten Theilstücke nicht vor dieser Zeit in den Ruhestand übergehen.

Beobachtet man die Schwärmer einer solchen normalen Cultur direct, so findet man, dass sie ähnliche Formen zeigen, wie sie in Fig. 9 dargestellt sind. Die Einzelstäbchen können sicher nach ihrer Abgliederung in ein und derselben Cultur sehr verschieden lang sein. In *a* sehen wir einen Schwärmer, welcher kürzer ist als die Hälfte des in Theilung begriffenen Schwärmers *d*. Unter normalen Verhältnissen werden die Schwärmer vor dem Beginn einer Einschnürung nicht viel keiner als *a* und nicht viel grösser als *c*. Ausser den einfachen Stäbchen kommen solche mit mehr oder weniger tiefer Einschnürung in der Mitte vor (*d* und *f*), die so weit gehen kann, dass die Stäbchen geradezu als Doppelschwärmer bezeichnet werden können. Es sind diese letzteren (*e*) die der definitiven Theilung vorhergehenden Zustände. Da sie ziemlich häufig sind, geht daraus hervor, dass sie immerhin ziemlich lange existenzfähig sind. Ausnahmsweise kommen statt dieser normalen, zweigliedrigen Schwärmer auch dreigliedrige vor.

Alle diese Formen sind lebhaft und eigenthümlich beweglich. Die einfachen Schwärmer, welche noch keine Einschnürung zeigen, bewegen sich in der Regel, ohne sich um ihre Längsachse zu drehen, gerade aus und wackeln dabei mehr oder weniger, meist sehr stark, nach rechts und links hin und her. Der Drehpunkt des Schwärmers liegt meist dem Vorderende stark genähert, so dass das Hinterende beim Wackeln einen grösseren Bogen beschreibt als das Vorderende. Gerade kleine Stäbchen wackeln schneller als grosse; bei gekrümmten Stäbchen sind die Bewegungen nicht so regelmässig. Stäbchen mit schwacher Einschnürung in der Mitte (*d* und *f*) wackeln oft mit gleichem Ausschlage beider Enden, und es sieht dabei manchmal so aus, als schlängelten

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05158-0200-8

sie sich, weil der Schwärmer in der Einschnürung scharnirartig beweglich ist. Ist die Einschnürung weiter fortgeschritten (*e*), so findet oft ein starkes Hin- und Herschleudern der beiden Hälften bei der Bewegung statt. Diese Doppelschwärmer ändern oft, ohne dass sie sich drehen, ihre Bewegungsrichtung; wenn ein solches Doppelstäbchen also von Nord nach Süd schwimmt, den einen Pol nach vorn, so kann es plötzlich von Süd nach Nord schwimmen, jetzt mit dem anderen Pol nach vorn, ohne seine Achse aus der Richtung Nord-Süd herauszubringen.

Die Schwärmer besitzen eine Membran. Dass Schwärmstäbchen eine Membran besitzen können, ist besonders durch Fischer's Untersuchungen sicher entschieden; bei Bacillus Solmsii (Fischer 1894, Taf. IV Figg. 1—3) z. B. tritt die Membran nach der Plasmolyse scharf hervor. Dennoch wäre es nicht auffallend, wenn solche Schwämer, die nur eine Zeit lang, gleich nach der Keimung schwärmen, membranlos wären. Ich habe deshalb einige plasmolytische Versuche zum Zwecke des Nachweises der Membran angestellt. Es wurde zuerst versucht, die Schwärmer mit 0,5 proc. Salpeterlösung einzutrocknen und dann mit alkoholischer Safraninlösung, mit Methylenblau oder Hämatoxylin zu färben. Es stellte sich hierbei nur selten osmotische Contraction ein, wie eine solche in Fig. 23 abgebildet ist. Eine Membran war dabei nicht zu erkennen. Setzt man zu einem Tropfen der Schwärmercultur einen gleich grossen Tropfen 5—10 proc. Salpeterlösung und dann sofort eine Spur conc. Jodkaliumlösung, so wird die Plasmolyse fixirt nnd die äusserst zarte Membran braun gefärbt. Jetzt erkennt man die Membran bei einfachen Stäbchen leicht, ebenso aber auch bei Doppelschwärmern. Bei manchen in Theilung begriffenen Stäbchen sieht man nur eine äusserst zarte Quermembran (Fig. 10 *a*), bei Doppelschwärmern mit weit auseinandergerückten Hälften eine dicke, anscheinend aber substanzarme Quermembran (Fig. 10 *b*).

Die Schwärmer besitzen in der Achse des Stäbchens liegende Vacuolen. Man sieht schon bei directer Beobachtung der lebenden Schwärmer, dass in der Achse des Stäbchens schwächer lichtbrechende Substanz liegt. Die Stäbchen sehen bei tiefer Einstellung etwa aus wie Fig. 9 *a*.

Tödtet man die Schwärmstäbchen mit Osmiumsäure ab, so lassen sich die helleren Stellen in der Achse der Schwärmer noch leichter beobachten als an lebendem Materiale. Sehr schön treten die axil liegenden Vacuolen bei seitlichem Zusatz von conc. Jod-

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05158-0201-4

jodkaliumlösung zum Präparate hervor, wenn man eben intensiv gefärbte Stäbchen ins Auge fasst. Bei längerem Liegen in der Lösung schrumpfen die Stäbchen, und die Plasmastruktur wird zerstört. Man sieht, wenn man sofort beobachtet, deutlich, dass die axile Region des Stäbchens nur schwach gefärbt und schwach lichtbrechend ist, während die periphere Region des Protoplasten im Allgemeinen kräftig gefärbt erscheint. Je nach dem Alter und dem Zustand des Stäbchens sind in dieser Region die zu beobachtenden Erscheinungen verschieden.

Doppelstäbchen zeigten häufig in jedem der noch zusammenhängenden Einzelstäbchen im Allgemeinen eine grosse hellere Stelle in der Mitte, in diese hineinragend eine dunklere Plasmamasse und sonst hauptsächliche Anhäufung des Cytoplasmas an den Polen, so dass das Aussehen der gefärbten Stäbchen im Grossen und Ganzen das der Fig. 11 *b* war. Dabei konnte ich aber sehr häufig bemerken, dass die dunkle Plasmamasse durch einen feinen Faden oder eine feine Lamelle mit der gegenüber liegenden Wand verbunden war. In beiden Fällen ist allermeist der innere Rand des Cytoplasmas nicht glatt, sondern es sind Spitzchen vorhanden, die erkennen lassen, dass die hellen Stellen noch von Cytoplasmafädchen oder äusserst feinen Lamellen durchsetzt sein können. Solche sieht man in manchen Fällen auch deutlich, so dass dann jedes oder eines der Stäbchen drei helle Stellen enthält oder sogar vier, die theilweise durch sehr feine Cytoplasmalamellen getrennt sind. Kurze Stäbchen, welche noch keine Einschnürung zeigten, verhielten sich ganz ähnlich wie die Hälften der Doppelstäbchen.

Längere Stäbchen mit schwachen Einschnürungen in der Mitte liessen sehr häufig entweder zwei oder vier hellere Stellen erkennen. Fig. 11 *c* stellt das gröbere Totalbild eines Stäbchens mit zwei hellen Stellen dar. Man sieht, dass das Cytoplasma an den Polen stark angehäuft ist, dass eine besonders starke Plasmabrücke die Mitte des Stäbchens durchzieht, und dass hier, was nicht immer der Fall ist, noch zwei dunklere Hervorragungen des Wandbeleges zu constatiren sind. Vier völlig getrennte hellere Stellen zeigt das in Fig. 11 *a* abgebildete Stäbchen. Hier ist die mittlere Plasmabrücke (α) ebenfalls sehr stark entwickelt; es sind aber noch zwei schwächere unregelmässigere Plasmalamellen β zu sehen, welche die Zelle ebenfalls durchqueren. Das sind also relativ häufig vorkommende Totalbilder, jedoch sind damit durchaus nicht alle Vorkommnisse beschrieben, und nur das Gröbste der Erscheinung ist gegeben; es

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05158-0202-0

verhält sich damit wie bei der Einzelzelle des Doppelstäbchens. In Figg. 11 *d*, *e* und *f* sind die Vacuolen und Protoplasten von drei etwas unregelmässigeren Fällen genau gezeichnet und können diese Bilder zur Ergänzung des Gesagten dienen. Die gröberen und auffallenderen Erscheinungen, vorzüglich die dickeren Plasmabänder und die häufig vorkommenden regelmässig vertheilten vier oder zwei helleren Stellen lassen sich auch bei Färbung der Schwärmer mit Methylenblau sehr leicht auffinden, während Feinheiten des Baues des Protoplasten nicht erkennbar werden. Setzt man zu einem Tropfen der Cultur eine Spur Methylenblaulösung (1 conc. alkohol. Methylenblaulösung + 10 Wasser), so färben sich die Schwärmer, ohne ihre Bewegung einzustellen. Zuerst färbt sich an den lebhaft beweglichen Schwärmern meist die Membran. Man sieht sie dann als zarte blaue Linie den Protoplasten umgeben; bei eben in Theilung begriffenen Schwärmern kann man auch eine zarte, schwach blau gefärbte Querwand (der Fig. 10 *a* entsprechend) sehen. Wenn die Einwirkung des Methylenblau länger dauert, so wird anscheinend die Lebensenergie des Protoplasten geschwächt, und nun tritt mehr oder weniger intensive Färbung des Protoplasten selbst ein, die bald die zarte Färbung der Membran sehr übertrifft. Bei schwach gefärbtem Protoplasten tritt wohl hie und da, bei kurzen Stäbchen, in der Mitte ein zart blau gefärbtes Pünktchen, der Kern hervor, allermeist ist aber vom Kern bei der Methylenblaufärbung nichts zu sehen, vielmehr werden die Schwärmer bald annähernd homogen gefärbt, mit mittlerer hellerer Region, oder es treten die in Figg. 12 *a* bis *c* wiedergegebenen Bilder auf. Zu diesen Bildern habe ich nur hinzuzufügen, dass die Querwand in Fig. 12 *c* hell erscheint gegenüber der Protoplasmafärbung. Die Membran nimmt stets zuerst den Farbstoff auf, färbt sich aber um so weniger intensiv, je älter sie wird und je mehr sie in Gallerte übergeht oder Gallertschichten bildet. Die Quermembran in Doppelstäbchen, deren Enden abgerundet sind (entsprechend Fig. 9 *e*), färbt sich deshalb kaum mit Methylenblau.

Aehnlich wie Methylenblau färbt Safranin (0,1 Safranin, 50 Alkohol, 50 Wasser) das Plasma der lebenden Schwärmer. In Eosin sterben die Schwärmer zu schnell ab. In Präparaten, die 5 Minuten in Formalindampf fixirt wurden, treten nach schwacher Safraninfärbung die gröberen Differenzirungen des Cytoplasmas auch gut hervor.

Die gröbere Anordnung des Cytoplasmas tritt mehr oder weniger

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05158-0203-6

verschwommen, immerhin noch erkennbar hervor, wenn man die Tropfen der Cultur an dem Deckglase antrocknen lässt, in der Flamme fixirt, mit Methylenblau schwach färbt und in Canadabalsam einbettet.

In eigenthümlicher Weise treten die Vacuolen durch Färbung ihres Inhaltes hervor, wenn man die Schwärmer nach Heidenhain in folgender Weise ausfärbt.

Von gut schwärmenden Culturen wurden 20 Tropfen mit 20 Tropfen 2proc. Gelatine und mit 2 Oesen Osmiumsäurelösung versetzt. Zur Mischung wurde dann conc. Jodjodkaliumlösung bis zur dunklen Braunfärbung zugesetzt. Davon wurde ein kleiner Tropfen auf das Deckglas gebracht und etwas stehen gelassen, schliesslich in eine Petrischale gelegt (auf Fliesspapier), daneben ein Uhrglas mit Formaldehydlösung gestellt und die Schale geschlossen. Nach 20 Minuten war die Gelatine gehärtet. Das Formaldehyd wurde aus der Schale genommen, in die Schale Heidenhain'sche Eisenlösung gegossen, 4 Stunden stehen gelassen, dann die Eisenlösung abgewaschen. Das Deckglas wurde hierauf in der Petrischale wiederum mit einer Lösung von 0,5proc. wässeriger Hämatoxylinlösung, wie es Heidenhain vorschreibt, oder mit Delafield'scher Hämatoxylinlösung übergossen und diese eine Nacht hindurch einwirken gelassen. Schliesslich wurde mit der Eisenlösung differenzirt.

Die so erhaltenen Präparate zeigten, wenn sie gut differenzirt waren, in den meisten Schwärmern mehr oder weniger zahlreiche dunkelblaue Körnchen in dem hellblau gefärbten Stäbchen. Die allermeisten dieser Körnchen verhielten sich gleichartig. Bei mittlerer Einstellung waren sie mehr oder weniger dunkel gefärbt, von unregelmässiger Gestalt und Grösse; bei nur etwas tieferer Einstellung wurden sie sofort farblos und machten den Eindruck von hellen Vacuolen in den blau gefärbten Stäbchen. Bei höherer Einstellung glänzten sie nicht. Ihre Materie ist also relativ schwach lichtbrechend, ihre Färbung doch wenig intensiv. Den sichersten Anhalt über ihre Natur gibt ihre Lage. Sie entspricht allermeist der der Vacuolen. In manchen Präparaten fanden sich fast ausschliesslich Punkte in der Lage, die in Figg. 13 *d* und *e* dargestellt ist, in den Schwärmern, seltener waren in den Präparaten unregelmässigere Anordnungen häufiger, wie sie die Figg. 13 *a*, *b*, *c* darstellen. Es ist also kaum zu bezweifeln, dass die Punkte allermeist eingetrockneten, gefärbten Vacuoleninhalt vorstellen. Nach Gram gefärbte Präparate, welche meist einen Tag in Nelkenöl differenzirt worden

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05158-0204-1

waren, zeigten ganz ähnliche Erscheinungen. Ein Paar so gefärbte Stäbchen sind in Figg. 14 *a* und *b* dargestellt. Wie vorher behandelte, mit Carmalaun gefärbte, mit Alaunlösung differenzirte Präparate zeigen ganz ähnliche, in der Achse des Schwärmers liegende, bei hoher Einstellung tief roth, bei tiefer farblos erscheinende Gebilde (Fig. 13 *A*).

Es hat mir übrigens den Eindruck gemacht, als könnten durch Eintrocknen hie und da auch schon in den Schwärmern künstliche Lücken entstehen, die sich mit Farbstoff füllen und ihn, da er in Masse vorhanden ist, langsamer völlig abgeben als das Protoplasma. Jedenfalls hängt auch das Erscheinen der Vacuolenfärbung wesentlich von der Präparation ab. In manchen Fällen, bei gut gehärteten Schwärmern, die nach dem Gelatineverfahren präparirt waren, erschienen bei Anwendung der Heidenhain'schen Färbung alle Bacterien homogen gefärbt. Die Schwärmer enthalten in den normalen einfachen Stäbchen meist ein oder zwei schwer nachweisbare Zellkerne. Der Nachweis der Zellkerne der Schwärmer ist sehr schwierig. Eine Methode, nach welcher die Kerne allein gefärbt werden, habe ich nicht finden können. In angetrockneten Präparaten sind die Kerne nicht nachweisbar; durch dieses rohe Verfahren wird ja überhaupt die Struktur des Protoplasten zerstört oder wenigstens für die feineren Beobachtungen unbrauchbar gemacht. Wenn man sich, durch Anwendung der sogleich zu beschreibenden Rutheniumrothmethode auf die Zellkerne der jungen Sporen und der Ruhestäbchen, mit dem Aussehen der gefärbten Kerne vertraut gemacht hat, so gelingt mittelst dieser Methode auch die Auffindung der Kerne in den Schwärmern.

Wir benützen eine heiss bereitete Lösung von 2 g Rutheniumroth (Grübler in Leipzig) in 100 ccm Wasser oder eine meist besser wirkende, frisch bereitete Lösung folgender Zusammensetzung:

0,02 Rutheniumroth
6 Wasser
2 Alkohol von 95 %.

Wir fixiren zuerst das Plasma, indem wir ein Tröpfchen der auf dem Objectträger befindlichen Cultur ein paar Minuten über den Hals der Osmiumsäureflasche halten. Um die überschüssige Osmiumsäure zu entfernen, lassen wir den Objectträger dann eine halbe Stunde im feuchten Raume liegen oder erwärmen ihn ganz schwach. Zu dem Tropfen mit den fixirten Schwärmern fügen wir etwas Rutheniumroth zu und beobachten. Die Färbung wird langsam intensiver und

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05158-0205-7

erstreckt sich über den ganzen Protoplasten, doch speichern die Kerne von allen Bestandtheilen des Protoplasten den Farbstoff am reichlichsten. Die Färbung hält sich in Glycerin und Glyceringelatine, in Canadabalsam nicht. In dieser Weise angewandt, wirkt das Rutheniumroth überhaupt als vortreffliches Kernfärbemittel. Die Kerne der Eumyceten färben sich gut damit. In Fig. 18 ist eine Zelle des Mycels von Hypomyces rosellus, welche in dieser Weise behandelt und in Glyceringelatine eingebettet worden war, bei der gleichen Vergrösserung skizzirt wie Fig. 15, um die Farbenunterschiede zwischen Kern und Cytoplasma zu zeigen. Bei günstigem Zufall sind die Differenzen in der Intensität der Färbung grösser. In den wachsenden Spitzen sind die Kerne schwieriger sichtbar zu machen und etwas kleiner als in älteren Hyphenzellen. In ungekeimten Sporen sind die Zellkerne sehr schwierig oder kaum in dieser Weise sichtbar zu machen.

Auch bei Angiospermen lassen sich die Zellkerne in gleicher Weise färben, noch besser färbt sich Alkoholmaterial, wenn man es direct mit Rutheniumroth behandelt.

Färbt man die Schwärmer von Astasia nach der Rutheniumrothmethode, so treten unter günstigen Verhältnissen die Kerne als kleine Punkte, die intensiver als das Cytoplasma gefärbt sind, hervor. Am besten sieht man sie, wenn sie von einer hellen Stelle umgeben sind, wie das auch bei den Kernen von Hypomyces nicht selten in den gefärbten Präparaten zu sehen ist. In den kleinen Stäbchen (Fig. 15 *a*) liegt ein, selten liegen zwei Kerne darin; in den längeren Stäbchen findet man meist zwei Kerne (Fig. 15 *b*), auch dann, wenn sie in Theilung begriffen sind. Selten finden sich in den in Theilung begriffenen Schwärmstäbchen drei oder vier Kerne.

Noch schwieriger als mit Rutheniumroth lassen sich die Kerne mit Jodjodkalium in den Schwärmern nachweisen. Das conc. Jodjodkalium muss schnell seitlich zudringen, aber ganz schwach färben, dann werden die Kerne etwas dunkler gefärbt als das Cytoplasma, so wie es in Fig. 16 dargestellt ist. In Fig. 17 ist eine gleich behandelte Zelle von Hypomyces dargestellt.

Die Stäbchen tragen Geisselbüschel, deren Einzelgeisseln so fein sind, dass sie nicht mehr aufzulösen sind. Zur Nachweisung der Geisseln wurde hauptsächlich folgende Methode benutzt, zu welcher sich Culturen in 1 proc. Fleischextractlösung besser eignen als Culturen in Normallösung, da sie bei der Färbung weniger Niederschläge bilden. Ein Tropfen der Cultur

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05158-0206-3

wurde auf ein mittelst Schwefelsäure und Alkohol gut gereinigtes Deckglas dünn ausgestrichen, lufttrocken werden lassen und nach dreimaligem Durchziehen durch die Flamme und Abwaschen mit Wasser, 4 Minuten lang mit einer Tanninlösung (2 + 5 Wasser) gebeizt. Nach der Beizung wurde gründlich mit destillirtem Wasser gewaschen, 2 Minuten mit Carbolfuchsin ausgefärbt, mit Wasser gewaschen, getrocknet und in Canadabalsam eingebettet. Andere Präparate wurden nach Loeffler gefärbt.

Die Geisselbüschel werden ziemlich leicht abgeworfen und verquellen dann auch leicht. In Fig. 19 sind bei Tanninbeize erhaltene, keilförmige und rundliche Massen, die verquollenen, abgeworfenen Geisselbüschel, dargestellt, die nicht weit entfernt von ihren Stäbchen liegen.

Sind die Geisselbüschel gut erhalten und gut gefärbt, so sieht man sie als kleine, unten dunklere, oben hellere, spreizende Gebilde, wie sie in Figg. 20 *a* bis *d* und in Figg. 21 *a* bis *g* dargestellt sind. In Fig. 20 *d* erkennt man ein oben auseinandergefasertes Gebilde. Nach diesen Bildern zu urtheilen, liegt hier keine Einzelgeissel vor, sondern ein Büschel äusserst zarter Geisseln, die nicht mehr einzeln zur Anschauung gebracht werden können. Diese Büschel stehen niemals am Pole, sondern meistens völlig deutlich seitlich, selten dem Pole sehr genähert (Fig. 20 *c*).

An kurzen Stäbchen, die noch keine Einschnürung erkennen lassen, sitzt meist nur ein Geisselbüschel (Fig. 20 *b*, *c*, *d*), viel seltener zwei (Fig. 21 *d*), selten findet man zwei oben, noch seltener zwei oben und eins unten (Fig. 20 *a*). An längeren, in Einschnürung begriffenen Stäbchen sitzen meist zwei bis vier Büschel. Ein grosses und ein kleines Geisselbüschel findet man dabei häufig (Figg. 21 *a*, *c*, *g*), auch vier in der Anordnung wie in Figg. 21 *e* und *f* sind nicht selten. Fig. 21 *e* zeigt noch keine Einschnürung, ist aber wahrscheinlich doch schon in Theilung begriffen. Es scheint mir aus diesen Beobachtungen folgendes hervorzugehen: Die einfachen jungen Schwärmer besitzen meist nur ein seitliches Geisselbüschel, seltener zwei. Wenn die einzelligen Stäbchen die Vorbereitung zur Theilung treffen, wächst (Fig. 21 *g*) anscheinend am anderen Pole ein neues Büschel heran, so dass beim Zerfall des Doppelstäbchens oft wieder zwei Stäbchen mit je einem Büschel entstehen, oder es wachsen während des Theilungsprocesses zwei neue seitliche Büschel heran, wie es in Figg. 21 *e* und *f* zu sehen ist. Man findet eben deshalb an solchen Stäbchen häufig kurze und lange Büschel neben einander,

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05158-0207-9

wie sie Figg. 21 *a*, *c*, *e*, *f* und *g* zeigen. Es ist wahrscheinlich, dass oft, durch Abwerfen des älteren Geisselbüschels, aus jungen, kurzen Schwärmern mit zwei Büscheln, solche mit einem Büschel hervorgehen.

Die Theilung der Schwärmstäbchen. Die Beobachtung der lebenden Schwärmer lehrt, dass ein Schwärmer meist bis zu einer gewissen, zwischen ziemlich weiten Grenzen schwankenden Grösse heranwächst und dann unter Einschnürung allermeist in zwei neue Schwärmer zerfällt. Es finden sich dabei alle Grade der Einschnürung (Figg. 9 *a*, *f*, *e*). Die Einschnürung beginnt meist in der Mitte der Stäbchen; seltener findet sich eine Einschnürung am Ende des Drittels eines Schwärmers, etwas häufiger eine in der Mitte und eine, welche am Ende eines Viertels des Stäbchens liegt (Fig. 22 *b*), also Formen, welche zeigen, dass die Schwärmer sich ausnahmsweise, ehe sie in zwei Stäbchen zerfallen, noch weiter theilen können und sich nicht stets in der Mitte zu theilen brauchen. Derartige anormale Schwärmer sind in manchen Fällen doppelt so lang wie das in Fig. 9 *d* abgebildete Stäbchen. In jungen, nur Schwärmer enthaltenden Culturen, sind die anormal langen Formen selten; in 8 Tage alten Normalculturen fand ich derartige und noch viel längere Schwärmer nicht gerade selten. Es kommen darin Schwärmer vor, die länger sind als das in Fig. 29 abgebildete Ruhestäbchen. Behandelt man die eingetrockneten Schwärmer mit Carbolfuchsin (Fig. 22 *b*), mit Safranin oder mit Hämatoxylin (Figg. 24 *a* und *c*) oder mit Methylenblau, so macht es den Eindruck, als fände diese Einschnürung auch unter Einschnürung der Membran statt; die Färbungen mit Jod (Fig. 10 *b*) lehren jedoch, dass auch bei den tief eingeschnürten, anscheinend kaum mehr zusammenhängenden Stäbchen, eine Querwand vorhanden ist, welche sich jedoch mit diesen Farbstoffen nur schwer oder kaum färbt. Gefärbte Präparate zeigen uns aber ferner, dass auch in nicht eingeschnürten Stäbchen schon eine Membran, die oft das ganze Stäbchen zu durchsetzen scheint, vorhanden ist. So tritt bei Jodfärbung und Plasmolyse die Querwand hervor, wie es in Fig. 10 *a* dargestellt ist. An nicht eingetrockneten Methylenblaupräparaten erscheint die Querwand als kaum gefärbte Linie (Fig. 12 *c*), ebenso sieht man sie nur schwach gefärbt bei höchst kräftiger Färbung von angetrockneten Präparaten mit Safranin (Fig. 23). Die mit Farbstoffen gefärbten Präparate zeigen ferner meist relativ deutlich, dass niemals, so lange zwei oder mehr Zellen zu einem Schwärmstäbchen vereinigt bleiben, selbst dann nicht, wenn sich zwischen den

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05158-0208-5

Doppelstäbchen in lebendem Zustande gar keine morphologischen Verbindungen mehr erkennen lassen, eine vollständige Durchtrennung des Protoplasten stattfindet; es sind stets Protoplasmaverbindungen zwischen den Gliedern eines Schwärmers vorhanden. Solche Protoplasmaverbindungen sind in Figg. 24 *c*, 22 *b*, 23, 12 *c* dargestellt.

Halten wir diese Erfahrungen alle zusammen und beachten wir, dass Schwärmer ohne Einschnürung relativ steif, die mit starker Einschnürung ganz leicht in der Einschnürungsstelle bewegbar sind, so dass hier nur eine sehr weiche Membransubstanz vorhanden sein kann, und beachten wir, dass die Ruhestäbchen später Schleimmassen zwischen sich ausscheiden, so lässt sich die Entstehung der Querwand und der Theilungsprocess am besten folgendermaassen auffassen.

Die Anlage der die Theilung eines Stäbchens in zwei bewirkenden Querwand geschieht in Form eines Ringes, der sich successive verengert und den Protoplasten mehr und mehr einschnürt, ihn aber niemals völlig durchschnürt, bevor ein Abreissen der Tochterstäbchen von einander stattfindet. Der Membranring ist anfangs immer dünn und gleich dick und kann es auch bis zur völligen Ausbildung der Querwand bleiben (Figg. 10 *a*, 23, 12 *c*); meist aber beginnt die Membran schon früh, schon bei ihrer Anlage, von aussen nach innen sich zu spalten, dabei in der Mitte zu vergallerten und wohl auch schon Gallertmasse zwischen sich auszuscheiden, so dass jetzt der Protoplast an den beiden der Wand angrenzenden Stellen mehr oder weniger flach eingeschnürt erscheint (Figg. 24 *a*, 9 *d*, 21 *b*). Ist Gallerte zwischen den Stäbchen reichlich gebildet, so durchzieht diese schwer färbbare Gallerte (Fig. 10 *b*) eine leicht färbbare lange Plasmaverbindung (Figg. 24 *c* und 22 *a*); beide Stäbchen bilden noch eine physiologische Einheit und sind doch in der Gliederungsstelle ganz leicht durchbiegbar und beweglich.

Fragen wir uns, wie sich die Kerne bei der Theilung der Schwärmer verhalten, so ist zuerst klar, dass die Entstehung der Wand von der Kerntheilung unabhängig verläuft; denn die Kerne liegen ja in den Stäbchen, in welchen noch keine Querwand entstanden ist, oft schon weit weg von der Stelle der Querwandbildung (Figg. 15 *b* und 28 *a*), wenn die Bildung der Querwand noch nicht begonnen hat. Da, wo die Querwand entstehen soll, bildet sich jedoch anscheinend stets vorher eine kräftige Brücke von Cytoplasma (Figg. 11 *a*, *c*, *e*, 12 *b*), in welcher dann der Wandring ausgebildet wird; ich habe die Entstehung der Einschnürung an Stelle des

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05158-0209-3

Plasmabandes direct beobachtet. Nach Bildung der Plasmabrücken währte es eine Stunde, bis deutliche Einschnürung eintrat; nach weiteren zwei Stunden waren die Stäbchen getrennt. Jedes entstehende junge Stäbchen bekommt bei der Theilung wohl meist nur einen Kern mit.

5. Die Ruhestäbchen vor der Sporenbildung.

Wie wir gesehen haben, vereinigen sich die Schwärmer zu Colonien, in denen sie in Ruhe kommen und sich, wohl nach Abwerfen der Geisseln, lebhaft weiter theilen, so ruhende Stäbchen, eventuell kurze Zellfäden erzeugend. Die Ruhestäbchen und Ruhefäden wollen wir nun etwas genauer verfolgen.

Die Ruhestäbchen, wie man sie in ungefähr 40 Stunden altem Materiale beobachten kann, gleichen fast alle in Grösse und Form den Schwärmern noch sehr. In den Schleimflocken, welche diese Colonien trüben, beginnt meist noch kaum die Sporenbildung in einzelnen der Ruhestäbchen. Die meisten der Ruhestäbchen erscheinen bei directer Betrachtung einzellig oder zweizellig (ähnlich wie Figg. 9 *b* und *f*), dabei rein cylindrisch, wie die Schwärmer, ebenso ungleich gross und ebenso gross, also so, wie sie Fig. 27 und Figg. 28 *a* bis *d* darstellt. Die Stäbchen theilen sich in diesem Jugendzustande noch, wie die Schwärmer, meist fortgesetzt in zwei Stäbchen, die bald aus einander fallen und wirr in der Colonie durcheinander liegen.

Aber nach und nach, wenn die Sporenbildung nach weiteren 24 Stunden in den Ruhestäbchen fast allgemein beginnt, treten die Theilungen in den noch weiter fortwachsenden Stäbchen nicht mehr allgemein so regelmässig auf, so dass in alten Colonien in Flüssigkeit und auf festem Substrate nicht selten vereinzelt viel längere Ruhestäbchen zu finden sind. In Fig. 26 *a* ist ein mässig langes, in Fig. 29 ein sehr langes derartiges Ruhestäbchen abgebildet. Theilt sich ein relativ langes Ruhestäbchen, so tritt die erste Theilwand meist von der Mitte weit entfernt, oft dem einen Ende ziemlich stark genähert, auf.

Die Theilwände treten hier, wie bei den Schwärmstäbchen, häufig anfangs als völlig gerade, dünne Quermembranen in Erscheinung, wie das in Figg. 26 und 28 *b* und *e* zu sehen ist, aber auch oft schon früh in Form der Einschnürung (Fig. 32), welche dieselbe Bedeutung haben wird wie bei den Schwärmern. Während aber die Schwärmer nur an den Flächen der sich trennenden Querwand Schleim ausscheiden, scheiden die Ruhestäbchen allseitig an ihren freien Flächen

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05158-0210-4

Schleim aus, welcher also die sich abgliedernden Stäbchen sofort ringsum umschliesst.

Die Schleimbildung ist in den jüngsten Colonien der Ruhestäbchen schon im Gange. In den jungen Colonien ist der Schleim wenig consistent und färbt sich deshalb nur schwach, in älteren Colonien wird er consistenter und färbt sich intensiver. Die Schleimbildung ist sehr verschiedenartig in verschiedenen Nährmedien und etwas verschieden in verschiedenen Culturen. Schon in drei bis vier Tage alten Culturen in Normallösung findet man den Schleim, der in jungen Culturen meist ganz homogen erscheint, oft um manche Stäbchen dichter und scharf abgegrenzt, wie es z. B. in Fig. 30 dargestellt ist. In manchen Fällen erkennt man bei Färbung des Schleims, dass derselbe geschichtet ist, vorzüglich sieht man das oft bei Stäbchen, welche schon Sporen bilden; oft aber beweist nur das Vorhandensein einer dichteren scheidenartigen Schleimschicht (Figg. 31 und 32) das Vorhandensein von Schichten ungleicher Dichte, die nach einander ausgeschieden wurden. Wo solche dichtere Schleimschichten gebildet werden, findet selbstverständlich keine so schnelle Zerstreuung der durch Theilung und Trennung entstehenden Individuen statt; die Zellen bleiben zu Scheinfäden angeordnet (Fig. 31). Es werden die Scheinfäden oft bei der Präparation gedehnt, so dass die um und zwischen den Stäbchen liegende Schleimmasse zu einem Faden ausgezogen wird (Fig. 26 *b*). Hie und da entstehen aber auch kurze Fädchen, wahrscheinlich dadurch, dass in einem lang herangewachsenen Stäbchen zugleich mehrere Theilwände auftreten (Fig. 31 *a*).

Die Färbung des Schleimes gelingt nur schwierig, es ist wohl neben der Schwerfärbbarkeit der Schleimsubstanz der geringe Trockensubstanzgehalt desselben daran schuld. Eine mässig intensiv gefärbte Lösung von Methylviolett (Pyoktanin, Merck) in 30proc. Alkohol färbt, wenn man Schleimflocken ein paar Stunden darin liegen lässt, die Stäbchen sehr intensiv, den Schleim mässig intensiv. Vorzüglich deutlich treten damit Schleimfäden hervor, die durch Ausziehen der Schleimschicht entstanden sind (ähnlich wie in Fig. 26), und dichtere Schleimhüllen. In Fig. 31 sind solche gefärbte Schleimhüllen dargestellt. Es geht aus dem Objecte Fig. 31 *a* hervor, dass von der ganzen Aussenfläche des Fadens, dessen Querwände noch nicht gespalten waren, starke Schleimmassen ausgeschieden worden sind, und aus Fig. 31 *b*, dass die Fäden wesentlich durch Ausziehen der Schleimschichten der Aussenwände entstehen, nicht hauptsächlich aus den zwischen den Querwänden ausgeschiedenen oder aus Membranschichten

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05158-0211-0

gebildeten Schleimmassen. Legt man die Schleimflocken längere Zeit in Delafield'sches Hämatoxylin, so färben sich die Schleimhüllen und Fäden, eventuell auch die Stäbchenmembran, mehr oder weniger intensiv (Figg. 26 und 30). Auch Magdalaroth in 30proc. Alkohol färbt den Schleim gut, wenn man ihn einige Stunden in der Farblösung liegen lässt und dann in Glycerin überträgt. Wie Fig. 32 zeigt, färbt Magdalaroth ebenfalls relativ dichte Schleimschichten relativ dunkel. Methylenblau, Fuchsinlösung, Safraninlösung und Rutheniumroth färben den Schleim nur sehr wenig.

Aus den Beobachtungen an den Schwärmern und den Ruhestäbchen ergibt sich kein Grund für die Annahme, dass die äusseren Schleimmassen durch Verquellung von Membranschichten entstehen; es macht eher den Eindruck, als handle es sich um Ausscheidung von Schleim durch die Membran des Spaltpilzes.

In den selten vorkommenden echten vielzelligen Fäden scheinen sehr kurze und dünne Plasmaverbindungen zwischen den Einzelzellen längere Zeit erhalten zu bleiben; zwischen Doppelstäbchen (Fig. 32, bei α) sind solche oft leicht nachzuweisen.

Der Protoplast der Ruhestäbchen ist wesentlich so gebaut wie der der Schwärmer. Morphologisch auffallende Reservestoffe werden nicht gebildet. Die Vacuolen scheinen einen ganz ähnlichen Charakter wie bei den Schwärmern zu besitzen (Fig. 28 *a*), manchmal noch ein wenig deutlicher und schärfer begrenzt zu sein als bei den Schwärmern. Erhitzt man die Stäbchen schnell mit Wasser und färbt sie sofort mit Rutheniumroth, so färben sich meist die Vacuolen intensiv roth, erscheinen bei hoher Einstellung dunkler als das Cytoplasma (Fig. 33), bei tiefer farblos. Auch bei anderen Methoden erhält man jetzt die Vacuolen noch leichter gefärbt als bei den Schwärmern. Fixirt man Ruhestäbchen mit Osmiumdampf, versetzt mit 1proc. Gelatine, härtet mit Formalindämpfen eine Stunde, färbt nach Heidenhain (mit 5proc. Hämatoxylinlösung), färbt schliesslich mit Magdalaroth gegen und bettet in Canadabalsam ein, so erhält man das Cytoplasma roth gefärbt und die Vacuolen oft als unregelmässig gestaltete Punkte, welche bei hoher Einstellung blau (Figg. 34 *a*, *b*), bei tiefer farblos (Fig. 34 *c*) erscheinen. Auch neben jungen Sporen sieht man, in schon angeschwollenen Stäbchen, oft solche Vacuolen. Die Kerne lassen sich in den Ruhestäbchen mittelst Rutheniumroth, nach Fixirung mit Osmiumsäure oder durch Erwärmen, auch bei Einwirkung von 5proc. Salpeterlösung und Rutheniumroth nachweisen. Bei diesen Behand-

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05158-0212-6

lungsweisen treten die Vacuolen als ungefärbte, das Cytoplasma als schwach, die Zellkerne als dunkler gefärbte Gebilde hervor. Die Färbung der Zellkerne der Ruhestäbchen ist meist intensiver als die Färbung der Schwärmerkerne. In Fig. 27 *b* sind Kerne, die mit Rutheniumroth, nach Osmiumsäurefixirung, gefärbt sind, dargestellt, während *a* durch Erhitzen fixirt wurde. Mit Jod treten die Kerne in den Ruhestäbchen oft sehr deutlich hervor. Man setzt zu stark schleimigen Tröpfchen einer Cultur, welche unter dem Deckglas liegen, seitlich conc. Jodjodkaliumlösung zu und beobachtet sofort an der Grenze der Jodlösung und der Nährlösung. Beobachtet man kurze Stäbchen im günstigen Augenblicke der Färbung, so findet man entweder einen Zellkern, welcher der Mitte mehr oder weniger genähert ist (Figg. 28 *c*, *d*), und der dann häufig ein wenig grösser ist als gewöhnlich, oder man findet zwei Zellkerne (Figg. 28 *f* und *a*), dann häufig in der Mitte eine kernfreie, breite Plasmabrücke. Die Kerne liegen allermeist im wandständigen Cytoplasma, selten auch mehr nach der Achse der Stäbchen zu, dann wohl in schmalen Cytoplasmalamellen oder Strängen, ähnlich wie sie in Fig. 17 für Hypomyces dargestellt sind. Sind die kurzen Stäbchen eben durch eine zarte Querwand in zwei Zellen gegliedert, so findet man in jeder Zelle einen kleinen Kern und oft einen Kern oder beide der Querwand relativ nahe (Fig. 28 *e* und *b*). Wahrscheinlich hat in diesem Falle auch die Theilung des Kernes kurz vor der Bildung der Querwand stattgefunden. Dass die Kerntheilung erst nach dem Beginne der Anlage der Zellwand stattfinden kann, geht aus Fig. 28 *g* hervor, in welcher nur ein Kern und schon beginnende Einschnürung dargestellt ist. Ganz lange, anormale Ruhestäbe (Fig. 29) enthalten stets mehrere Kerne. Es ist in ihnen die Kerntheilung schnell vorgeschritten, während die Zelltheilung unterblieb.

Also auch hier ist die Membranbildung von der Kerntheilung nicht direct abhängig, findet nicht stets in der Mitte zwischen zwei Kernen statt, die ihre Theilung eben vollendet haben, folgt also der Kerntheilung nicht auf dem Fusse, so dass eben ein- bis vielkernige Zellen, resp. Stäbchen, vorkommen können.

Die ohne Sporenbildung absterbenden Ruhestäbchen bedürfen noch einer kürzeren Besprechung, da sie in den älteren Colonien eine constante Erscheinung sind, auch in denen, welche reichlichst Sporen erzeugen. Diese absterbenden Stäbchen liegen theilweise in Gruppen zusammen, theilweise liegen sie vereinzelt zwischen den Sporangien. Ich habe einmal ein solches absterbendes

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05158-0213-1

Stäbchen beobachtet und war erstaunt, wie schnell dasselbe der Entleerung anheimfiel; es dauerte kaum vier Stunden, so dass es nicht ganz unwahrscheinlich ist, dass benachbarte gesunde Stäbchen durch ihren Einfluss die Lösung der absterbenden Protoplasmamassen beschleunigen und die Zersetzungsprodukte selbst wieder benutzen.

Die abgestorbenen Ruhestäbchen sehen nach kurzer Zeit allermeist ganz charakteristisch aus. Am häufigsten sieht man eine zarte Membran, in deren Mitte ein Klumpen Plasma (?) liegt, während zarte Körnchen verschiedener Form in der übrigen Zellmembran zerstreut liegen. In Fig. 36 habe ich ein paar solcher Stäbchen, welche mit Rutheniumroth gefärbt waren, abgebildet.

6. Die Sporangien.

In vielen der Ruhestäbchen entwickeln sich Sporen.

Normaler Weise entsteht in jedem Stäbchen nur eine, im fast fertigen Zustande der einen Spitze genähert liegende Spore. Die fast reife Sporen enthaltenden Stäbchen sind meist spindelförmig angeschwollen (Figg. 37 *a, d, i, h, l*). Selten liegen bei sonst normalen Stäbchen die Sporen in der Mitte (Figg. 37 *a* und *e*).

Von dem normalen Verhalten weichen zahlreiche Sporen ab. Nicht selten kommen trommelschlägerförmige Sporangien mit einer Spore vor. (Figg. 37 *f, c*). Auch Sporangien mit zwei Sporen sind nicht gerade selten (Figg. 37 *b* und 38), und findet sich in diesen meist eine grosse und eine kleinere oder wenigstens schlankere Spore, da diese Stäbchen meist trommelschlägerförmig sind; eine Querwand findet sich in diesen Stäbchen nicht. Sporangien, welche gleichmässig doppelt angeschwollen sind, (Fig. 37 *g*) sind selten; wie weit bei ihnen die Durchschnürung der Protoplasten geht, habe ich nicht festgestellt; es scheint, als bestehe meist eine breite Verbindung zwischen den Protoplasten der beiden Hälften. Die sporenbildenden Stäbchen fahren fort, Schleim abzusondern, so dass sie stets von einer mehr oder weniger dichten Schleimhülle umgeben sind (Fig. 39), die geschichtet sein kann (Fig. 40), jedoch nur durch Färbung sichtbar zu machen ist. Die sporenbildenden Stäbchen sind gelblich (Fig. 39). In den Ruhestäbchen, welche zur Sporenbildung schreiten, liegen anscheinend wechselnd ein oder zwei Kerne. Wenn ein Kern vorhanden ist, so liegt derselbe in der Mitte des Sporangiums (Figg. 35 und 28 *c, d*), wenn zwei vorhanden sind, so nehmen sie meist die Lage ein, die in Fig. 28 *a* angegeben ist. In den Sporangien mit zwei Kernen betheiligt sich, wie in den einkernigen, nur ein Kern an der Sporenbildung, und ist der nicht an der

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05158-0214-7

Sporenbildung theilnehmende Kern sehr schwierig und nur selten im lebenden Sporangium zu sehen, leichter in dem mit Jod gefärbten; er bleibt meist relativ klein.

Die erste Erscheinung, welche den Beginn der Sporenbildung verräth, ist im normalen Falle eine geringe Anschwellung des Sporangiums in die Dicke, wobei zugleich eine schwache Zuspitzung des Sporangiums eintritt, und das Auftreten einer bei tiefer Einstellung hellen, ellipsoidischen, von einer etwas dichteren Cytoplasmahülle umschlossenen Stelle. Die Plasmahülle umgibt unter Umständen die Vacuole schon als annähernd scharfe Linie, ähnlich wie in Fig. 48 *o*, manchmal ist sie so scharf nicht entwickelt, und die Erscheinung gleicht mehr der Figur 43 *n*. Immer ist also eine Plasmabrücke da, wie sie bei Theilung eines Ruhestäbchens oder Schwärmers sich bildet, nur ist diese verschoben und dicht um die Sporenvacuole mehr oder weniger verdichtet. Der Kern liegt wahrscheinlich jetzt meist noch im dichten Wandbeleg, ist dabei relativ klein und deshalb meist nicht zu sehen. Er tritt aber bald, wenn die Anschwellung des Sporangiums ein wenig fortschreitet, mehr oder weniger deutlich hervor. Seine Lage ist dabei verschiedenartig. Manchmal liegt der Kern anfangs der Spitze des Sporangiums genähert im Cytoplasma, manchmal mehr der Brücke genähert oder in dieser. Das Sporangium schwillt nun weiter im oberen Theile an (Fig. 48, 2.20), während sich zugleich die Sporenvacuole vergrössert, das Grenzplasma vermehrt und homogener in das Cytoplasma des Sporangiums übergeht (auch Figg. 48, 50). Wie die Jodfärbung lehrt, ist in diesem Zustande der Zellkern meist an Plasmabändern in der Mitte der Sporenvacuole aufgehängt (Figg. 42 *a, d*); er ist auch in den lebenden Stäbchen leicht zu sehen (Figg. 48 *o*; 48, 2.20; 43 *b, c*) und auf seine Maximalgrösse herangewachsen. Die weitere Veränderung besteht in dem Dickerwerden der protoplasmatischen Grenzschicht und in einem Dichterwerden des Inhaltes der Vacuole. Bei hoher Einstellung glänzt jetzt schon die Sporenanlage etwas (Figg. 43 *d, g*; Figg. 48, 25), aber sie ist noch von Plasmasträngen durchzogen, die wahrscheinlich jetzt dicker sind und zwischen sich Reservestoffe ansammeln. Nach kurzer Zeit folgt auf diesen Zustand der Zustand der scharfen Abgliederung des Sporenplasmas vom Cytoplasma des Sporangiums.

Die dichte Plasmaschicht, die um die jetzt, bei tiefer Einstellung, dunkler erscheinende Sporenvacuole liegt (Figg. 49, 25), grenzt sich mehr und mehr scharf nach aussen ab (Figg. 49, 50; Figg. 43 *e* und *f*), während sich zugleich eine helle Zone um die Spore bildet. Der

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05158-0215-3

Kern ist meist noch sichtbar, leicht, wenn er in der Mitte der Spore zu sehen ist, schwieriger, wenn er im dichten Plasma des Randes der Spore liegt. Es scheint so, als ob sich nun das Plasma mehr und mehr contrahire und zugleich in der Peripherie der Sporenanlage ansammle, da die Mitte der Sporenanlage hell bleibt, die Sporenanlage meist kleiner wird und die Lichtbrechung immer stärker. Die Spore liegt nun bei hoher Einstellung als hellglänzende, scharf abgegrenzte Masse im Sporangium (Figg. 47, 10. 30 *b*). Die Spore ist jetzt noch nackt und scheint, vielleicht nachdem sie sich mit einer dünnen Haut, der Stäbchenmembran, umgeben hat, ein wenig heranzuwachsen und sich erst dann mit einer dicken, farblosen, glatten Membran zu umhüllen (Fig. 44 *c*), auf welche sich schliesslich die gelbe Exine mit ihren Leisten auflagert.

Zur Untersuchung der Sporenausbildung benutzt man am besten die oben schwimmenden Flöckchen aus 48 Stunden alten Culturen in Normallösung. Die Untersuchung nach der Jodmethode gibt den schnellsten Aufschluss über die Lage der Kerne und die Form des Protoplasten während der Sporenbildung. Untersucht man Stäbchen, welche schon fertige oder unfertige, aber deutlich und stark lichtbrechend hervortretende Sporen enthalten, so findet man, wie die Skizzen 41 *a*—*e* zeigen, allermeist einen relativ kleinen Kern im Cytoplasma neben der Spore liegen. Das mit Jod gefärbte Cytoplasma enthält im unteren Theile meist eine hellere Stelle, eine mehr oder weniger von Fäden durchsetzte Vacuole, und der Kern liegt an sehr verschiedenen Stellen im Cytoplasma, meist jedoch von der Spore ziemlich entfernt (*a*, *b*, *e*), selten der Spore genähert oder an der Basis der Spore (Fig. 41 *d*). In langen und trommelschlägerförmigen Sporangien findet man den Kern meist leicht, in kurzen habe ich ihn öfter nicht auffinden können. Ich kann daher nicht mit Sicherheit sagen, ob in allen Fällen in der sporenbildenden Zelle ein Kern neben dem in der Spore vorkommenden Kerne vorhanden ist; ich möchte aber annehmen, dass ein ausserhalb der Spore liegender Kern nicht immer vorhanden ist. Die Sporangien, welche zwei Sporen enthalten (Figg. 37 *b* und 38), habe ich, wegen ihrer Seltenheit, nicht genau untersuchen können; einmal schien mir neben zwei Sporen ein Kern vorhanden zu sein. Wendet man seine Aufmerksamkeit den angeschwollenen, aber noch keine stark lichtbrechenden Sporen enthaltenden Sporangien zu, also denen, in welchen die Sporenbildung im lebhaften Gange ist, so findet man in diesen Stäbchen stets einen auffallend grossen und stark durch Jod hervortretenden Kern (Figg. 42 *a*, *k*), wie wir sehen werden, den Sporenkern, und sehr häufig einen

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05158-0216-9

zweiten, weniger leicht erkennbaren Kern (Figg. 42 *d* und *e*β), welcher jedoch in manchen Fällen, auch bei genauestem Nachsehen, nicht gefunden wurde. Der Sporenkern liegt nun stets in einer durch eine Plasmabrücke abgegrenzten, ovalen, vacuoligen, meist von Plasmafäden (oder Lamellen?) durchzogenen Region. Diese Region erscheint anscheinend um so schärfer umgrenzt und um so schärfer von der übrigen Region des Stäbchens abgegrenzt, je weiter das Sporangium in der Sporenentwickelung fortgeschritten ist (vgl. Figg. 42 *a* und *e*). Die übrige Region des Stäbchens ist ebenfalls vacuolig, in ihrem Vacuolenbau aber recht wechselnd. Manchmal ist eine (Fig. 42 *a*) oder es sind zwei besonders hellere Stellen vorhanden, manchmal ist die ganze Region mehr gleichmässig vacuolig oder von Fäden durchzogen.

Von grösster Wichtigkeit ist nun, dass man 1. niemals erheblich grössere kernartige Körper findet, dass also der Kern nicht wächst und sich nicht direct etwa zur Masse der Spore in irgend einer Weise ausbildet, 2. dass zwischen den abgebildeten Stadien und denen, in denen eine deutlich abgegliederte Spore zu sehen ist, keine weiteren Uebergangsstadien zu beobachten sind.

Die Sporangien mit scharf abgegrenzten, stark lichtbrechenden Sporen zeigen bei Jodbehandlung folgendes. In den 48 Stunden alten Culturen sind sehr viele Sporangien enthalten, welche die Spore als fast homogene, braune Stäbchen ohne Doppelcontur zeigen, die von einer mehr oder weniger ausgebildeten helleren Zone umgeben sind, welche ohne scharfe Grenze in das Cytoplasma übergeht. Diese fast oder ganz nackten Sporenanlagen sind anscheinend noch sehr weich, denn sie können sich bei schlechter Härtung unregelmässig verbiegen. Vom Zellkerne konnte ich in den Sporenanlagen nur in äusserst seltenen Fällen eine Andeutung, durch Jod, nachweisen. Fig. 42 *f* stellt ein solches Sporangium bei mittlerer Einstellung dar, in dem man auch eine häufig vorkommende Art der Vertheilung des Cytoplasmas erkennt. Die hellere Stelle in der Mitte des unteren Theiles des Sporangiums verschwindet in älteren Sporangien, in denen man die dicke Sporenmembran mit der Exine und das in ihr liegende Stäbchen gut erkennen kann (Fig. 42 *g*).

Wendet man nun die sorgfältigste Aufmerksamkeit der Betrachtung sehr zahlreicher in einem in der Nährlösung liegenden Schleimflöckchen befindlichen, lebenden, angeschwollenen Sporangien zu, so kann man unter diesen vier verschiedene Formen erkennen.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05158-0217-4

Die anscheinend jüngsten der spindelförmigen Sporangien zeigen bei mittlerer Einstellung (Fig. 43 *a* bis *e*) eine der jungen Spore entsprechende terminale helle, ellipsoidische Stelle mit einem meist recht deutlichen Kerne, welcher meist ungefähr in der Mitte der helleren, ellipsoidischen Stelle liegt (Figg. 43 *a, c, d, e*), seltener stärker seitlich, der Grenze derselben genähert (Fig. 43 *b*). Die helle Stelle selbst erscheint meist nicht völlig homogen, sondern lässt manchmal mehr oder weniger deutliche Ungleichheiten (Fig. 43 *b*) erkennen, die durch die Plasmastränge, in denen der Kern hängt, veranlasst werden. In der Nähe der ellipsoidischen, schwach lichtbrechenden Stelle ist die Hauptmasse des Cytoplasmas deutlich angehäuft, und oft erscheint die nicht von der Sporenanlage eingenommene Stäbchenhälfte deutlich heller.

Die zweite Kategorie, wohl eine Stufe ältere Sporangien umfassend, unterscheidet sich von der ersten dadurch, dass die Sporenanlagen bei mittlerer und tieferer Einstellung eben so dunkel oder etwas dunkler erscheinen als das Cytoplasma und nur selten noch einen Kern erkennen lassen (Figg. 43 *f* und *g*). Bei hoher Einstellung glänzen die Sporen noch nicht, sind also noch relativ wenig stark lichtbrechend. Die Sporenanlagen sind hier oft schon mit einem etwas helleren Hofe umgeben. In diesem Zustande fand ich in absterbenden Stäbchen die Sporenanlage manchmal vom umgebenden, dann scharf begrenzten Cytoplasma abgehoben, indem sich die Anlage einseitig, bohnenförmig contrahirt hatte. Die Spore ist wohl jetzt schon mit einer peripheren, dichten protoplasmatischen Grenzschicht versehen.

Dass dieser Zustand sich von dem vorhergehenden dennoch nicht wesentlich unterscheidet, geht schon daraus hervor, dass nach Jodfärbung ein derartiges Stäbchen genau so aussieht wie Fig. 42 *e*, nur ist die obere vacuolige Stelle dunkler gefärbt. Ausserdem habe ich auch einmal gesehen, wie sich bei einer absterbenden Spore, deren Bau noch der ersten Kategorie angehörte, an der Spitze das Plasma der Spore scharf begrenzt zurückzog (Fig. 43 *m*).

Bei einer dritten Sorte von Sporangien findet man die Sporen stark lichtbrechend, noch nicht von einer erkennbaren Membran, wohl aber von einem deutlichen Hof umgeben (Fig. 43 *h*). Vielleicht hat sich jetzt schon eine zarte Membran um die Spore gebildet, die nicht direct sichtbar ist. Schliesslich findet man Sporangien, deren Sporen eine mehr oder weniger deutliche Membran erkennen lassen (Figg. 43 *i* und *k*), mit deutlichen Leisten.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05158-0218-0

Nur in älteren Culturen kann man, wie ich gleich noch bemerken will, in Auflösung begriffene Sporangien sehen. Es scheint, als löse sich die Membran des Stäbchens langsam auf, während das Protoplasma homogen wird und dann oft als ganzes Stück oben und unten geradezu von der Spore abfällt. So wird die Spore frei.

Wenn man in Schleimklümpchen, in denen die Sporangien allgemein in Sporenbildung begriffen sind, die noch nicht angeschwollenen Stäbchen beobachtet, so findet man öfter solche, welche das Aussehen zeigen wie Fig. 43 *n*, also in einer endständigen, etwas dichteren Plasmamasse eine helle Vacuole erkennen lassen.

Die Färbung der Kerne durch Rutheniumroth im Materiale, welches in Sporenbildung begriffen war, gelang mir am besten in folgender Weise. Ein Schleimflöckchen aus einer 48 Stunden alten Normalcultur, welches möglichst vom Rande der Flüssigkeit entnommen war, wurde mit einer gleichen Menge der Flüssigkeit herausgehoben und auf dem Objectträger mit dem gleichen Volumen einer etwas älteren, normalen, spiritushaltigen Rutheniumrothlösung versetzt und gemischt. Nach Auflegen des Deckglases wurde beobachtet. Nach einiger Zeit trat in verschiedenen Sporangien und Ruhestäbchen die Färbung der Kerne ein, die oft äusserst scharf und tief war, gegenüber der Färbung der oft fast noch farblosen Cytoplasmamasse des Stäbchens. In Figg. 44 *h* bis *i* sind solche Färbungen dargestellt. Besonders hervorzuheben ist davon die Fig. 44 *i*, in der der Kern ausserhalb der oben befindlichen, an ihrer Grenze gefärbten Sporenvacuole liegt. Wahrscheinlich ist dieser Kern ein zweiter Kern des Sporangiums, während der Sporenkern selbst nicht gefärbt wurde. In Fig. 44 *m* sieht man zwei Kerne, von denen der Sporenkern undeutlicher ist als der andere, und in Fig. 44 *n* ist nur der äussere Kern gefärbt, während die fortgeschrittene Sporenanlage noch keinen Farbstoff aufgenommen hat. In Fig. 44 *k* und *l* sind die Kerne der Sporenanlagen schön gefärbt. Lässt man den Farbstoff länger auf die Stäbchen einwirken, oder kommt er zu concentrirt zur Wirkung, so färben sich auch junge Sporenanlagen relativ intensiv.

Härtet man mit Osmiumsäure und wendet man den Farbstoff länger und concentrirt an, so färben sich auch wenig fortgeschrittene Sporenanlagen so wie es die Figg. 44 *a, b* und *d* zeigen. Die weiter fortgeschrittenen Sporenanlagen erscheinen bei dieser Färbung und nach der vorher besprochenen Methode, je nach ihrem Alter und der Art des Eindringens des Farbstoffes, recht verschiedenartig gefärbt. In Fig. 44 *a* ist eine noch völlig membranlose Spore bei hoher Ein-

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05158-0219-9

stellung gezeichnet. Fig. 44 *c* zeigt eine runde Spore, deren Exine noch keine Spur von Leisten besitzt, während Fig. 44 *o*, die wie Fig. 44 *c* bei mittlerer Einstellung gezeichnet wurde, schon Andeutungen von Membranleisten nur die ersten Anzeichen erkennen lässt. Fig. 44 *e* ist bei etwas hoher Einstellung gezeichnet und lässt die Leisten der roth gefärbten Exine sehr schön hervortreten.

Erwärmt man mit Osmiumsäure getödtete oder auch lebende junge Sporangien mit der Farbstofflösung, so werden manchmal die Kerne sehr intensiv gefärbt, doch tritt dabei leicht Zerstörung der Plasmastruktur ein. In Fig. 44 *f* sind gefärbte Kerne dargestellt.

Nach dem, was ich über die Sporenfärbung mittelst Carbolfuchsin und Methylenblau gesagt habe, ist es selbstverständlich, dass die Färbung der angetrockneten, in Sporenbildung begriffenen Stäbchen, je nach Ausführung der Methode, eine sehr verschiedenartige werden muss. Rothgefärbt bleiben nur mit einer Membran versehene Sporen bei gutem Gelingen der „Sporenfärbung"; junge Sporen geben das Fuchsin zu leicht ab. Als Kunstprodukte treten häufig in der Nähe der Sporen mit Fuchsin gefüllte Höhlungen und dunkle Punkte auf. Beim Nachfärben mit Methylenblau färben sich die Sporangien und membranlosen Sporen homogen blau oder letztere nicht viel intensiver als das Cytoplasma der Spore. Manchmal hebt sich die junge Spore aber von dem Plasma ab (Fig. 45 *c*).

In Fig. 45 ist in *a* ein nach der Carbolfuchsin-Methylenblaumethode gefärbtes Sporangium bei tiefer, in Fig. 45 *b* ist ein solches bei hoher Einstellung dargestellt. Das Stäbchen in der Spore ist hier intensiv roth, die Membran der Spore kaum, das Cytoplasma des Sporangiums blau gefärbt. Unten liegt eine rothe „Vacuole", die wahrscheinlich beim Eintrocknen erst entstanden ist.

Die continuirliche Beobachtung der Sporenbildung wurde in folgender Weise durchgeführt. Die feuchte Kammer bestand aus einem Objectträger, auf dem eine kreisförmig ausgebohrte Glasplatte von 3,5 mm Dicke aufgeschmolzen war. In den Behälter wurde an den Seiten ein Baumwollenfaden gelegt, so dass die Mitte des Objectträgers frei blieb und dann wurde der Faden mit Wasser befeuchtet. Nachdem Vaseline auf den Rand der Glasplatte gestrichen war, wurde das Deckglas mit dem Präparate aufgelegt. Das Präparat wurde in der Weise erhalten, dass aus einer 48 Stunden alten Normalcultur ein kleines Schleimflöckchen herausgenommen, auf dem Deckglase ausgebreitet und einige Minuten offen stehen gelassen wurde, so dass der Rand der dickeren Schleimmassen etwas antrocknete und eine Verschiebung des Schleimes so unmöglich wurde.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05158-0220-0

Die Beobachtungen wurden an verschiedenen Stäbchen von verschiedener Entwickelungshöhe durchgeführt. Ich gebe hier meine Notizen:

1. Um $10^1/_2$ Uhr Morgens wurde ein gerades Stäbchen beobachtet, an dessen Spitze eine helle Vacuole lag (Fig. 46 *o*).

$3^3/_4$ Uhr Nachmittags war das Stäbchen angeschwollen wie Fig. $5^1/_4$. Um 5 Uhr war eine schon etwas stärker als das Cytoplasma lichtbrechende Spore vorhanden, um $5^3/_4$ Uhr war die Spore stark lichtbrechend geworden (Fig. 8). Am zweiten Tag, 8 Uhr Morgens, schien schon eine Membran gebildet zu sein, die jedoch erst um 12 Uhr deutlich doppelt conturirt erschien (Fig. $14^1/_4$).

2. Das Stäbchen war schon angeschwollen, als die Beobachtung um 9 Uhr 4 Minuten begann. Ungefähr wie Fig. 47, 9.4 zeigt, ist bei tiefer Einstellung an der Spitze eine schräg liegende, helle Stelle zu sehen, in welcher der Kern deutlich dunkelgrau hervortritt. Eine Grenze zwischen dem die helle Stelle direct umgebenden dichten Cytoplasma und dem übrigen Cytoplasma ist noch nicht zu erkennen. Die Sporenanlage ist also noch sehr schwach lichtbrechend.

Um 9 Uhr 55 Minuten. Die Begrenzung der Sporenanlage ist noch nicht schärfer geworden. Der Kern ist bei tiefer Einstellung noch sichtbar. Bei hoher Einstellung erscheint jetzt die Sporenanlage etwas stärker lichtbrechend als das Cytoplasma des Sporangiums.

Um 9 Uhr 60 Minuten erscheint der Kern etwas undeutlicher, ein ganz klein wenig grösser, verschwommen, wohl von einer etwas grösseren centralen Plasmamasse umhüllt.

Um 10 Uhr 10 Minuten ist der Kern nicht mehr sichtbar, während die noch nicht scharf abgegrenzte Spore weiter etwas an Lichtbrechung zugenommen hat.

Um 10 Uhr 30 Minuten hat sich die Spore abgegrenzt; sie erscheint bei tiefer Einstellung innen noch heller als an der Peripherie (Fig. 47, 10,30 *a*), bei hoher (Fig. 47, 10,30 *b*) schon kräftig lichtbrechend. Sie hat sich etwas contrahirt. Bis 12 Uhr 30 Minuten wird die Spore immer stärker lichtbrechend, ändert sich aber dann bis 1 Uhr kaum. Um 1 Uhr scheint die Spore von einer scharf begrenzten, schwach lichtbrechenden Zone umgeben zu sein, doch ist die Beobachtung nicht ganz zuverlässig, weil sich das Sporangium aufrecht gestellt hat.

3. Das um 11 Uhr 10 Minuten in Beobachtung genommene Sporangium war fast noch cylindrisch, und einseitig eine Spur zugespitzt. Wie Fig. 48 *o* zeigt, war sein Protoplast in eine längere

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05158-0221-5

und kürzere Partie gegliedert. Die kürzere Partie, die Sporenanlage, war umgeben von einer bei tiefer Einstellung dunklen, elliptischen, protoplasmatischen, ziemlich scharfen Contur. Die Partie innerhalb der Contur war hier weniger hell als in Fig. 43 *n*, welche wohl einen ähnlichen, vielleicht aber auch etwas späteren Zustand darstellt. Seitlich in der Sporenvacuole lag eine diffuse dunklere Stelle, wohl der Kern.

Um 11 Uhr 30 Minuten lag der diffuse, gestreckte Kern in der Mitte. Um 12 Uhr war das Sporangium etwas gewachsen, oben etwas angeschwollen. Die Grenze zwischen Sporenvacuole und dem übrigen Sporangium war von einer dickeren Plasmabinde eingenommen, der Kern nach der anderen Seite gerückt, etwas deutlicher (Figg. 48, 50).

Von 12 Uhr bis 1 Uhr 30 Minuten schwoll das Sporangium noch etwas stärker oben an (Fig. 48, 2.20), die Sporenvacuole wurde relativ etwas schwächer lichtbrechend, da das umgebende Cytoplasma dichter wurde. Der Kern schien seine Stellung zu wechseln, doch ist es auch nicht unmöglich, dass das Sporangium sich etwas gedreht hatte. Der Kern lag um 1 Uhr 30 Minuten wieder in der Mitte der Sporenvacuole.

Um 1 Uhr 45 Minuten liegt der Kern wieder der Peripherie genähert. Um 1 Uhr 55 Minuten erscheint die Sporenvacuole bei tiefer Einstellung schwach, aber deutlich dunkler als das umgebende Plasma, behält aber in der Mitte eine hellere Stelle. Es grenzte sich also eine periphere dichtere Plasmamasse der Sporen jetzt deutlicher optisch von dem Cytoplasma des Sporangiums ab. Diese Abgrenzung begann zuerst an der Stelle, an welcher der Kern lag. Das Sporangium sah dann bei tiefer Einstellung ungefähr aus wie Fig. 43 *c*.

Um 2 Uhr 25 Minuten trat deutlichere Abgrenzung, stärkere Lichtbrechung, etwas schräge Lagerung der Spore (ungefähr wie Fig. 43 *g*) ein. Die Lichtbrechung nahm nun stetig zu. Um 3 Uhr war Contraction der Spore eingetreten, und eine helle Zone umgab die Spore. Auch noch um 3 Uhr 45 Minuten liess die bei hoher Einstellung hell glänzende Spore bei tiefer Einstellung eine hellere Mitte erkennen (Fig. 48, 4.35). Nun veränderte sich das Aussehen des Sporangiums und der Spore längere Zeit wenig. Um 6 Uhr war anscheinend Spore und Sporangium eher etwas kleiner als grösser geworden, die Spore bei hoher Einstellung etwas glänzender. Um 8 Uhr am anderen Morgen war die Spore ein wenig vergrössert und lag gerade; das Sporangium erschien etwas schlanker.

4. Ein Sporangium von dem Aussehen der Fig. 49 *o* wurde bei tiefer Einstellung von 11 Uhr 20 Minuten ab continuirlich

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05158-0222-1

beobachtet. Der Kern war sehr deutlich sichtbar und von einer hellen Vacuole umgeben, die von dunklerem Cytoplasma rings umschlossen war. Der Kern wanderte bald nach dem unteren, dichten Rande der Sporenvacuole hin, während innerhalb 25 Minuten sich zugleich der Protoplasmarand der Vacuole mehr und mehr dunkler färbte, anscheinend auch die Vacuole mehr an Lichtbrechung zunahm. Nach 25 Minuten (Figg. 49, 25) war die Spore am unteren Theile schon deutlich abgegrenzt, der Kern trat immer noch etwas hervor, obgleich er in dem stark lichtbrechenden peripheren Plasma der Spore lag. Weiter wurde der Rand der Spore mehr und mehr dunkel und scharf, während sich zugleich das Cytoplasma in der Nähe der unteren Seite der Sporen lichtete und später, nach 25 Minuten, auch nach oben rechts zu heller wurde. Nach 50 Minuten zeigte also das Sporangium ungefähr das Aussehen der Figg. 49, 50.

II. Allgemeine Bemerkungen.

1. Die Sporen.

Soweit mir die Litteratur über die Bacterien bekannt ist, findet sich in derselben nur eine eben erschienene Mittheilung von Burchard (1897) über eine complicirtere Struktur der Sporenmembran, mit Ausnahme derer über das Vorkommen eines äusseren Gallertmantels. De Bary (1884, S. 498) sagt über die Sporen: „Die reife Spore ist von runder bis ellipsoidischer oder cylindrisch-länglicher Gestalt, je nach dem Einzelfalle". „Sie besteht aus einem für die gegenwärtigen Untersuchungsmittel völlig homogenen, stark lichtbrechenden Protoplasmakörper; dieser wird — wie sich bei der Keimung zeigt — dicht umgeben von einer dünnen, aber festen, oft anscheinend spröden Membran, und rings um diese erkennt man wiederum oft eine blasse, schwach lichtbrechende und schwach conturirte Hülle von augenscheinlich gelatinöser Consistenz und nicht genau definirbarer stofflicher Beschaffenheit, welche die Sporen als zarter Hof umgibt und in manchen Fällen ausserdem an einem oder an beiden Enden derselben zu einem schweifartigen Fortsätzchen ausgezogen zu sein scheint. Diese Erscheinungen sind wohl zuerst von Pasteur (Études sur la meladie des vers à soie I, 228) beschrieben worden, allerdings ohne klare Erkennung ihrer Bedeutung." Klein (1889, S. 346) beschreibt ähnliches und sagt von Bacillus leptosporus: „Die Spore besitzt auch hier eine in zwei Schichten gesonderte Membran, wie Bacillus subtilis, megaterium, sessilis und andere, um die ziemlich

Universitätsbibliothek Regensburg urn:nbn:de:bvb:355-ubr05158-0223-7

scharfe Sporenmembran im engeren Sinne einem ziemlich breiten, matt silberglänzenden Gallerthof, der nicht bloss eine optische Erscheinung ist, weil dicht beisammenliegende Sporen sich niemals mit den stark glänzenden Rändern berühren." Ernst (Zeitschrift für Hygiene 1888, IV und V) bildet solche Hüllen beim Wurzelbacillus ab, und Grethe (1897, S. 5) beschreibt sie ebenfalls für diesen. Eine blasse Hülle habe ich bei den Sporen von Astasia nicht bemerkt, nur hie und da sah ich bei kaum frei gewordenen Sporen an der Membran noch fremde Reste, die ich für Plasmareste des Sporangiums halte, sitzen. Dagegen fand ich, wie angegeben, dass die Membran der Spore aus zwei Schichten besteht, die man wie bei anderen Pilzen als Episporium (Exosporium), Aussenhaut, und Endosporium oder Innenhaut bezeichnen könnte. Ich möchte aber vorschlagen, der Einfachheit halber, die analogen Aussen- und Innenschichten der Membran aller Sporen, aller einzelligen Verbreitungsorgane, mit den schon für die Sporen der Angiospermen und Gymnospermen, Pteridophyten und Moose benutzten kurzen Ausdrücken Exine und Intine zu benennen, und haben deshalb diese Ausdrücke auch gebraucht.

Die Exine und Intine bilden die feste Sporenmembran, und es ist zu vermuthen, dass da, wo sich eine Schleimschicht an den Sporen findet, diese erst über der Exine derartiger Sporen liegt, dass also die Schleimschicht nicht die Exine physiologisch oder morphologisch vertritt.

Wie bei den Eumyceten trägt die gelbliche Exine auch bei Astasia allein die Leisten (Fig. 2). Die Intine ist farblos und bleibt bei der Keimung der Sporen erhalten. Das Keimstäbchen, welches austritt, besitzt sofort eine Membran, und es ist nicht unwahrscheinlich, dass es dieselbe schon im Ruhezustand der Spore besitzt; es würde mir wenigstens dadurch das Zusammenziehen des Stäbchens innerhalb der Membran, beim Trockenwerden, wie es aus Fig. 6 hervorgeht, begreiflicher werden.

Die bei Astasia gefundene auffällige Struktur der Sporenmembran ist deshalb von besonderem Interesse, weil jetzt vorauszusehen ist, dass sich solche Strukturen noch mehr finden lassen werden, wenn man die Sporen in frischem Zustande färbt und lebend genau untersucht. Es sind also von dieser Seite aus neue morphologische Species-, vielleicht auch Gattungscharaktere zu erwarten. Die Durchmusterung von Hunderten von Sporen der Astasia haben mir gezeigt, dass die Sporen im ausgereiften Zustande stets die geschilderte

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05158-0224-3

Morphologie der Sporenmembran aufweisen, mögen sie in Flüssigkeiten oder auf der Möhre gewachsen sein, dass also dieses morphologische Kennzeichen recht constant ist. Allerdings können, wie es scheint, die Leisten in ihrer Deutlichkeit etwas variiren, ebenso wie die Grösse der Sporen, die Form der Sporen und die Dicke der Membran. Diese Variationen sind werth, genau untersucht zu werden, da sie wahrscheinlich auch in Correlation zu der Widerstandsfähigkeit der Sporen stehen werden.

Dieser Intine und Exine von Astasia entsprechen höchst wahrscheinlich die nach Burchard (1897) beim Keimen der Sporen von Bacterium Petroselini abgeworfenen zwei Sporenhäute, von denen die erste dunkler und dichter, die letztere zarter und heller ist. Migula (1897) bildet die beiden Häute auf Tafel VI in Fig. 28 ab.

Bei der Keimung der Spore verändert sich die Beschaffenheit der Membran anscheinend schon bald beim Anschwellen der Spore, wenigstens verändert sich ihr Aussehen etwas. Es ist höchst wahrscheinlich, dass das wachsende Stäbchen im Innern der Spore die Membran chemisch bearbeitet, nicht nur dehnt. Grethe (1897, S. 18) fand, dass angeschwollene Sporen der von ihm untersuchten Species, sobald sie ihre starke Lichtbrechung verloren haben, trotz der noch vorhandenen Membran, der Sporenfärbung gegenüber wie vegetative Stäbchen verhalten und meint, man könne das nicht anders erklären als durch die Annahme, dass das besondere Verhalten der Sporen in der Beschaffenheit der Substanz des Sporenstäbchens, nicht in dem Verhalten der Membran beruhe, wie man gewöhnlich annimmt; denn, meint er, es wäre nicht einzusehen, wie eine Membran, die die Nährflüssigkeit so leicht durchliesse, wässerige Farbstofflösungen und alkalisches Methylenblau nicht durchlassen solle. Dass solche Membranen aber physikalisch möglich sind, ist zweifellos, und die Thatsache, dass Essigsäure nicht quellend auf die Spore einwirkt, ist ebenfalls kein Grund gegen die allgemeine Annahme. Nach meinen Erfahrungen spielt unter allen Umständen die Membran eine wichtige Rolle beim Verhalten der Sporen gegen Farblösungen, wobei aber nicht ausgeschlossen ist, dass in einzelnen Fällen auch die Stäbchen der ungekeimten Sporen den Farbstoff etwas stärker zurückhalten könnten als die vegetativen Stäbchen. In Astasia liegt ein schönes Beispiel für polare Keimung vor, welches zugleich eine Erklärung für die Constanz dieser Erscheinung bei Astasia zulässt, denn die Längsleisten erschweren hier doch wohl ein Durchreissen der Membran an der Seite und zwingen das Stäbchen polar auszutreten. Constant seitlicher Austritt der Stäb-

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05158-0225-9

chen bei der Keimung mag wohl auch in besonderen Strukturverhältnissen der Membran seinen Grund haben; es sprechen dafür auch die von Prazmowski (1880, S. 12) an den Sporenmembranen von seinem Bacillus subtilis beobachteten polaren Verdickungen (1880, Tafel I *A* und *B b*), die allerdings erst nach Dehnung der Membran gesehen wurden. Grethe beobachtete bei seinem Heubacillus II einige Male eine solche Verdickung an den Polen und bei diesem Pilze trat das Stäbchen ebenfalls meist ganz äquatorial aus. Auch bei Megaterium zeichnet de Bary (1884, S. 500 Fig. 194 *k*) wenigstens an dem einen Pole der Spore eine Doppelcontur in das Bild der Membran. Sporen, deren Membranen ganz homogen wären, würden mit der Art der Keimung, polar oder äquatorial, leicht wechseln können. Es wäre wohl lohnend, einmal den Zusammenhang zwischen Membranstruktur und Form der Sporenkeimung bei den Bacterien mit unseren besten optischen Hilfsmitteln genauer zu verfolgen.

2. Der Protoplast der Schwärmer und Ruhestäbchen.

Die Form der Zellen der Bacterien ist keine besondere; die Zellen besitzen Membranen und können Geisseln bilden wie viele andere Pflanzenzellen, z. B. Pilzzellen. Die Physiologie und Biologie der Bacterien steht der der Pilze sehr nahe, ihre Lebensäusserungen sind im Allgemeinen keine principiell anderen als die der Eumyceten. Da man weiss, dass bestimmte physiologische Leistungen der Zelle eng mit der Morphologie der Zelle zusammenhängen, dass z. B. die Assimilation des Kohlenstoffes abhängig ist von den Chromatophoren, so musste man auch bei den Bacterien von vornherein einen ähnlichen Bau des Protoplasten vermuthen wie bei den Pilzen. Wir hatten bisher die Erfahrung gemacht, dass alle Zellen der Organismen, die eine genaue Untersuchung zuliessen, Cytoplasma und Kerne besitzen, und dass keines dieser Organe des Protoplasten allein lebensfähig ist; wir hatten also auch deshalb keinen Grund, anzunehmen, dass Zellen, die wir ihrer Kleinheit wegen nicht genau untersuchen konnten, ohne Cytoplasma und Zellkern seien, bis das Gegentheil bewiesen sein würde. Wir gehen deshalb auch wissenschaftlich richtig vor, wenn wir Erscheinungen, die für das Vorhandensein einer Morphologie sprechen können, die derjenigen des Protoplasten der Eumyceten ähnlich ist, im Sinne einer Analogie zwischen der Eumycetenzelle und Spaltpilzzelle deuten.

Die Eumycetenzellen besitzen allermeist in ihren vegetativen Zuständen mehr oder weniger zahlreiche Vacuolen, die den normalen

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05158-0226-4

Vacuolen der höheren Pflanzenzellen gleichen, und häufig ist ein grosser Theil des Cytoplasmas wandständig. Eine Reihe von Erfahrungen sprechen dafür, dass sich der Bacterienprotoplast ganz ähnlich verhält.

de Bary (1894, S. 491) sagt: „Der Protoplasmakörper der Zelle erscheint im Stadium der lebhaften Vegetation bei den meisten, auch grösseren Formen als eine homogene, schwach lichtbrechende, den Zellraum ausfüllende Masse. Distincte Körnchen, deren stoffliche Beschaffenheit dahingestellt bleiben muss, lassen sich bei grösseren Formen auch in diesen Zuständen hie und da unterscheiden. Bei nachlassender Vegetation treten sie reichlicher hervor, und kann auch öfters eine wandständige Anordnung des Protoplasmas um einen wasserhellen Mittelraum beobachtet werden." S. 501 sagt er von Bac. Megaterium: „Das Protoplasma erfüllt den Zellraum minder gleichförmig und erscheint um einen helleren Mittelraum wandständig —".

1891 hat Alfred Fischer zuerst in energischer Weise die Ansicht vertreten, dass das Cytoplasma der wichtigste Inhalt der Bacterienzellen sei (S. 70), und dass letztere einen die Hauptmasse des Zelllumens einnehmenden Zellsaftraum besässen. Er gründete seine Ansicht darauf, dass die Bacterienzellen beim Einbringen in Kochsalzlösungen von $^1/_2$—10 % oder andere osmotisch gleich wirksame Lösungen ihm Erscheinungen zeigten, wie sie unter denselben Bedingungen bei Algenzellen beobachtet werden konnten. Fischer sagt in dieser Arbeit: „Eine Inhaltsbeschaffenheit wie in der ausgewachsenen Zelle höherer Pflanzen, eine Sonderung in einen protoplasmatischen Wandbelag und einen die Hauptmasse des Lumens einnehmenden Zellsaftraum hat man für die echten Bacterien bisher wohl nicht vorausgesetzt. Nur für die dicksten Fadenbacterien, z. B. Crenothrix, wurde eine solche Beschaffenheit des Inhaltes angenommen, wie auch die Abbildungen z. B. bei Zopf (Spaltpilze p. 96 Fig. 35) zeigen. Und doch kann auch die kleinste Bacterie, welche so starke Plasmolyse zeigt, wie auf der Tafel dargestellt ist, eine andere Struktur nicht besitzen. Wenn der Inhalt einer Zelle durch 2 % NaCl-Lösungen bis auf zwei kleine Kugeln contrahirt wird, so muss die Zelle sehr saftreich sein, und dieser wässerige Saft muss einen grossen centralen Saftraum (Vacuole) erfüllen. So ergibt sich, dass auch die Bacterienzelle, wie die ausgewachsenen Zellen höherer Pflanzen, einen mehr oder weniger kräftigen protoplasmatischen Wandbeleg besitzt, der einen sehr grossen, den grössten Theil des Lumens einnehmenden Saftraum umschliesst. Wenn

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05158-0227-0

die Bacterienzelle dicht mit Protoplasma erfüllt wäre, dann könnte nicht so starke Plasmolyse eintreten. Man versuche einmal, embryonale wasserarme Zellen des Vegetationspunktes einer beliebigen Wurzel zu plasmolysiren, man wird viel schwächere Contraction bekommen, als bei den Bacterien." Auch in der 1894 erschienenen Arbeit sagt Fischer, auf dieselben Gründe gestützt: „Dieser (der Protoplast) hat denselben Bau wie eine ausgewachsene Pflanzenzelle, er besteht aus einem der Zellwand angepressten dünnen Schlauch aus Protoplasma und umschliesst den Zellsaft, der den grössten Theil des Zellinneren erfüllt."

Es ist selbstverständlich, dass der Schluss Fischer's nicht beweiskräftig war, denn eine Contraction einer Plasmamasse auf zwei kleine Kugeln kann auch erfolgen, wenn der ganze Protoplast schaumig ist oder solid und sehr wasserreich. Ich stimme also in diesem Urtheil ungefähr mit Bütschli (1896, S. 62) überein und bemerke, dass ich die Auseinandersetzungen von Fischer auf S. 108 seiner Arbeit (1897) genau gelesen habe. Fischer beschreibt nun ferner weder in dieser Arbeit noch in seiner 1894 erschienenen Arbeit eine Vacuole, und folgende Bemerkung aus der letzteren Arbeit (S. 29) zeigt geradezu, dass er eine solche nicht beobachtet hat: „Plasmolysirt man mit 5 proc. Kochsalzlösung, so schnürt sich der anfangs vollkommen gleichmässig matte Inhalt in eine Mehrzahl ungleicher, stark glänzender Theile durch."

Es ist aber festzuhalten, dass es immerhin eine wichtige Errungenschaft für die Frage nach der Natur des Bacterienprotoplasten war, als Fischer nachwies, der Protoplast der Bacterien verhalte sich bei den plasmolytischen Versuchen nicht anders als der der höheren Pflanzen, dass er also mit diesem ähnlich gebaut sein könne.

Die erste genaue Beschreibung der Vacuolen einer Bacterienspecies lieferte Migula (1894, S. 134). Er untersuchte Bacillus oxalaticus, eine Form, deren Stäbchen bis 4 μ dick und bis 30 μ lang sein können, also mit Astasia verglichen äusserst gross waren. In den jungen Schwärmern dieser Art findet Migula keine Vacuole; beobachtet er jedoch ihre Weiterentwickelung, so sieht er, dass sich bald eine einfache Centralvacuole ausbildet. Bei weiterer Streckung erkennt er dann in der Mitte der Zelle eine Plasmabrücke, welche die centrale Vacuole in zwei Vacuolen theilt. Es treten ferner weitere Theilungen der Vacuole durch Plasmalamellen ein, so dass schliesslich (in dem von Migula abgebildeten Objecte) fünf gleichgrosse Vacuolen hinter einander liegen. Jetzt bildet sich die erste Querwand in dem Stäb-

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05158-0228-6

chen, indem von der relativ dicken, in der Abbildung deutlich hervortretenden Membran aus ein Membranring in eine der Plasmalamellen hineinwächst und zuletzt in der Mitte zur geschlossenen Membran zusammenschliesst. Nachdem noch mehrere Zellwände entstanden sind, zerfällt das nun mehrzellige Stäbchen in zwei neue Stäbchen. Näheres über dieser Zerfall theilt Migula nicht mit.

In neuester Zeit hat sich Fischer wieder mit den Vacuolen der Bacterien beschäftigt. Den Bau des Protoplasten von Spirillum undula beschreibt er nach mit Osmiumsäure fixirten, mit Wasser ausgewaschenen, angetrockneten und mit Hämatoxylin gefärbten Objecten oder nach auf andere Weise gefärbten, vorher mit Jodalkohol gehärtetem, eingetrocknetem Materiale (1897, S. 104) folgendermaassen: „Der gleichmässig gefärbte Inhalt zeigte auf das schönste den Bau, den ich nach dem plasmolytischen Verhalten schon erschlossen hatte, d. h. einen plasmatischen Wandbelag und einen centralen Saftraum, der nun allerdings nicht ohne Unterbrechung das ganze Zellinnere durchsetzt, sondern gekammert ist. Durch das Zellinnere ziehen quer zur Längsachse der Zelle protoplasmatische Septen, so dass mehrere kleinere Vacuolen sich in der Längsachse an einander schliessen.“ In Figg. 72 und 71 stellt er diese Vacuolen dar. Ich möchte hierzu bemerken, dass die Methode des Antrocknens der Objecte keine zweckmässige ist und keine sicheren Schlüsse zulässt, schon deshalb nicht, weil wir nicht gewohnt sind, angetrocknete Pilzzellen und Phanerogamenzellen zu beobachten, mit welchen diese Präparate zweckmässigerweise allein verglichen werden können.

Meine Untersuchung der Vacuolen der Astasia haben mir den bestimmten Eindruck gemacht, als verhielten sich die Vacuolen dieses Spaltpilzes ganz so wie die Vacuolen in den gestreckten Zellen von Eumyceten. Sie liegen meist axil und sind von verschiedener Form und Zahl in einem Stäbchen, wie es aus den Figg. 12 *d, e, f* ohne Weiteres hervorgeht. Wie es scheint, ist der Inhalt der Vacuolen bei den Ascomyceten sehr substanzreich. Bei Hypomyces liess sich meist sehr viel Glycogen durch die Jodfärbung in den Vacuolen nachweisen und hie und da sogar mit Jod sich tiefbraun färbende Tropfen in denselben auffinden. So ist es zu erwarten, dass auch die Vacuolen der Bacterien oft concentrirte Lösungen von Reservestoffen enthalten, und die Erscheinung, dass sich die Vacuolen der eingetrockneten Bacterienzellen leicht, wenigstens in ihrer peripheren Partie, intensiver färben als das Cytoplasma, ist vielleicht theilweise hierauf zurückzuführen.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05158-0229-4

Als dem Zellkerne der höheren Pflanzen gleichwerthig sind schon sehr verschiedene Bestandtheile des Bacterienprotoplasten erklärt worden, ohne dass es bisher gelang, irgend einen anzuerkennenden Wahrscheinlichkeitsbeweis für diese Annahme zu erbringen.

1888 hat Schottelius (Bacteriol. Centralblatt Nr. 23) einen stabförmigen Körper, der in der Achse des Stäbchens hervortrat, beschrieben und angenommen, es könne dieses Gebilde vielleicht der Kern sein. Da er die Plasmabrücke, welche bei der Theilung entsteht, hell nennt, so hat er wahrscheinlich relativ hoch eingestellt und das „dunkle" Kernstäbchen ist dann wohl eine axile Vacuole gewesen.

Ernst (1889) hat vorzüglich durch folgende Behandlung der Bacterien schwarzblau gefärbte Körner von sehr verschiedener Form erhalten, die er für Kerne erklärt, welche sich später in Sporen verwandeln. „Das mit starker Löffler'scher Methylenblaulösung (30 ccm conc. alk. Methylenblaulösung, 200 ccm dest. Wasser, 100 ccm einer 0,01 proc. Kalilauge) beträufelte Deckglas wird über der Flamme hin und her bewegt bis leichte Dämpfe aufsteigen, dann in Wasser abgespült und in wässriger Bismarckbraunlösung nachgefärbt." Er benutzte ferner zur Färbung Hämatoxylin und Kernschwarz. Dass die gefärbten Körner Ernst's sehr verschiedener Natur sind, lässt sich bei kritischer Betrachtung der Abbildungen sicher erkennen. Dass die sich „theilenden Kerne" (S. 483) in Figg. 5 und 8 auf Tafel VI, biskuitförmige Massen, welche breiter sind als das Bacterienstäbchen, nichts mit meinen Kernen zu thun haben, leuchtet ohne Weiteres ein. Es scheinen völlige Kunstprodukte zu sein. Andere Punkte (z. B. Fig. 16 Tafel V) sind vielleicht gefärbte Vacuolen, andere wieder (z. B. Fig. 17 Tafel V) gefärbte Plasmareste im Absterben begriffener Stäbchen. Wenige davon sind vielleicht junge Sporen (einzelne Punkte in Fig. 13 Tafel V). Ob durch diese Methode hie und da Kerne sichtbar werden, weiss ich nach Ernst's Angaben nicht zu beurtheilen; ich habe keinen blauschwarzen Punkt in den Abbildungen von Ernst entdecken können, der mit einiger Wahrscheinlichkeit als von einem Kern herrührend angesprochen werden könnte. Ich mache übrigens noch auf das Referat von E. Zacharias (Bot. Zeitung 1889 S. 315) aufmerksam.

Bütschli (1890) theilte im Jahre 1890 mit, dass die Bacterien, wie die Cyanophyceen, einen „Centralkörper" besässen, welcher die Hauptmasse der Bacterien ausmache, axil läge, sich mit Hämatoxylin roth färbende Chromatinkörnchen enthalte (S. 36) und von einem

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05158-0230-5

mehr oder weniger dünnen Plasmabelege (S. 21) umgeben sei, und dass dieser Centralkörper als Zellkern aufzufassen sei. S. 22 sagt er, dass bei gewöhnlichen Bacterien nur noch an den beiden Enden Cytoplasma vorhanden sei oder überhaupt solches nicht mehr deutlich unterschieden werden könne. Ihr Organismus reducire sich also im Wesentlichen auf den Zellkern und die wohl überall vorhandene Membran. In seiner 1896 erschienenen Schrift steht Bütschli noch auf demselben Standpunkte. Er sagt S. 74: „Diese beiden scharf feststellbaren Punkte scheinen mir keine andere Deutung, als die von mir 1890 gezogene, zuzulassen, dass die Körpersubstanz der einfachen Bacterien dem Centralkörper oder Kern der höheren entspricht und dass wir daher eine Rinde oder ein Plasma höchstens in der Membran und den Geisseln, insofern beide vorhanden sind, suchen können, dass also das Plasma hier jedenfalls nur minimal ausgebildet ist."

Bütschli's Kern ist der ganze Protoplast der Bacterien. Was die Rindenschicht oder das Cytoplasma, welches Bütschli ausser Membran und Geisseln noch beobachtete, in Wirklichkeit war, habe ich nicht untersucht. Fischer (1897) erklärt es als leere, durch Contraction des Protoplasten entstandene Stellen und wird damit wohl recht haben. Auch Frenzel's (1892) Figuren 1—5 auf Tafel XIV lassen deutlich erkennen, dass dessen „Centralkörper" durch Plasmolyse entstanden ist, das vermeintliche Plasma aus leeren Stellen zwischen Protoplast und Membran besteht. Die „Chromatinkörner der Zellkerne" Bütschli's scheinen mir ergastische Gebilde (Meyer 1896, S. 212) zu sein.

Wahrlich (1890—91) erklärte den ganzen Inhalt der Bacterienzelle für einen Kern und kommt auf Grund der F. Schwarz'schen Reactionen zu dem Schlusse, dass die Körner aus „Chromatin", das übrige aus „Linin" bestehe.

Zukal (1892), der in den Phycochromaceen Zellkerne nachweist, erklärt die „rothen Körnchen" Bütschli's für identisch mit seinen Zellkernen der Spaltalgen (S. 322), hält die Untersuchungen von Ernst für maassgebend und überträgt seine Anschauungen von den Cyanophyceenkernen direct auf die Bacterien. Genauere Angaben über Untersuchungen der Bacterien macht er nicht. Dass alle rothen Körner Bütschli's Zellkerne seien, ist schon wegen der höchst verschiedenen Grösse derselben in einer Zelle (z. B. Bütschli 1896, Tafel III Fig. 21) nicht wahrscheinlich und ich will schon hier betonen, dass gar kein Grund für die Annahme einer

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05158-0231-1

Verwandtschaft zwischen Spaltalgen und Spaltpilzen vorliegt, so dass, selbst wenn die Angaben Zukal's über die Spaltalgen richtig wären, die Uebertragung der bei den Spaltalgen gewonnenen Erfahrungen auf die Bacterien nicht ohne Weiteres zulässig erscheint.

Sjölring's (1892) Angaben und Abbildungen sind mir gänzlich unverständlich, und merkwürdige Kunstprodukte sind die von Trambusti und Galeotti (1892) mit schwach alkoholischer Safraninlösung erhaltenen Bilder, die mir wesentlich durch Membranfärbungen zu Stande gekommen zu sein scheinen und mit Kerntheilungen sicher nichts zu thun haben.

Was Ilkewicz (1894) bei seiner Osmiumsäurefärbung in angetrockneten Sporen sieht und als Kern erklärt, ist wahrscheinlich nur der zusammengeschrumpfte Protoplast der Spore, und was Löwit (1896) für den Kern hält, ist der Protoplast, theilweise mit, theilweise ohne Membran. Löwit erklärt in einzelnen Fällen die Gallerthülle, in anderen angetrocknete Nährsubstratmassen, die sich um die Individuen anhäuften, für das Cytoplasma der Bacterien.

Fischer (1897, S. 126) sagt am Schlusse seiner letzten Arbeit über die Bacterien: „Der Inhalt der Bacterienzelle gliedert sich in einen protoplasmatischen Wandbeleg und einen Zellsaftraum, der bei gestreckter Form durch protoplasmatische Septen gekammert ist. Ein Zellkern ist mit den jetzigen Methoden nicht nachzuweisen (S. 115). Die stärker färbbaren Körnchen sind weder Zellkerne, noch Chromatinkörnchen, sondern wahrscheinlich Reservestoffe (S. 116)." Ferner (S. 115): „Die stärker färbbaren Granula dieses Bacterienprotoplasten machen, wenn sie einzeln in jeder Zelle sich finden, durchaus den Eindruck von Zellkernen [Fig. 25 Tafel I [1]), Fig. 73 [2]) und einiger Individuen der Figg. 77 [3]) und 78 [4]) Tafel III], sowohl in ihrem Grössenverhältniss zur ganzen Zelle, als auch oft in ihrer Lage (z. B. Figg. 73, 75*a* Tafel III). Dagegen fällt jede Aehnlichkeit mit Kernen weg, sobald mehrere solcher Körnchen sich finden, was bei Cholera (Fig. 78) und Typhus (Fig. 77), bei Cladothrix (Fig. 74), Milzbrand und Vibrionen (Fig. 25) sehr oft, bei Schwefelbacterien (Figg. 67, 68) regelmässig vorkommt. Hier würde nur zweierlei anzunehmen sein. Entweder alle die gleichartig sich färbenden Körner sind gleichwerthig, was durchaus nicht nothwendig ist, und sind ent-

1) Grosser Vibrio aus Sumpfwasser, Jodalk., Delaf. Hämatoxylin.
2) Cladothrix dichotoma, Jodalkohol, unverd. Delaf. Hämatoxylin, 2 Minuten.
3) Typhusbacillen, Jodalkohol, 0,1 Methylenblau, 10 Secunden.
4) Choleravibrio, Jodalkohol, 0,1 Methylenblau, 15 Secunden.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05158-0232-7

weder alle Kerne oder alle keine Kerne. Aus der ersten Annahme folgte, dass eine Zelle bald ein-, bald vielkernig sein kann, wofür bisher kein Beispiel vorliegt. Im anderen Falle liesse sich die Natur der Körner nicht näher bestimmen. Oder man müsste annehmen, dass unter den sich gleichfärbenden zahlreichen Körnern einer Zelle das eine nur der Zellkern sei. Hier würde dann einstweilen die weitere Unterscheidung aufhören, da andere Anhaltspunkte sich nicht ergeben. Denn in sich theilenden Spirillen (Fig. 72) waren keine Beziehungen dieser Körnchen zum Theilungsvorgang aufzudecken. Für vielkernige Zellen wäre das ja auch nicht nöthig, für einkernige aber doch sehr wahrscheinlich.

Meiner Ansicht nach fehlt es durchaus an jedem guten Grunde, diese Körnchen, auch wenn sie nur einzeln vorkommen, als Zellkern zu deuten. Dennoch glaube ich, dass es Manchem schwer fallen wird, meiner Ansicht sich anzuschliessen. Bilder, wie Fig. 73, Fig. 75 und Fig. 77*a*, werden dafür, dass die Bacterien einen Kern enthalten, vielleicht beweiskräftig genug erscheinen.

Wer solche Schlüsse zu ziehen beabsichtigt, wird aber erst noch durch eingehende Culturversuche den Beweis zu erbringen haben, dass die Körnchen nicht bloss Reservestoffe, für die ich sie halte, sind."

Also selbst Fischer hat in seiner sorgfältigen und methodisch die meisten anderen Arbeiten weit überragenden Arbeit, welche erschien, nachdem ich die Kernfrage schon für mich entschieden hatte, Kerne nicht nachweisen können.

Ich selbst habe, weil ich annehmen musste und sah, dass Wasserbacterien meist mehr leicht färbbare Reservestoffe enthielten als solche Bacterien, die in Nährlösung schwimmen, für die Entscheidung der Kernfrage keine Wasserform gewählt, sondern eine möglichst körnchenfreie, in Nährlösung cultivirbare Form. Da die Kerne der Pilze oft während des Sporenbildungsprocesses besonders gross und deutlich hervortreten, habe ich zuerst nach einem kernartigen Gebilde in den sporenbildenden Stäbchen gesucht und bei Astasia schon ohne Färbung ein solches Gebilde leicht (Figg. 43*a*—*f*) beobachten können. Die Färbbarkeit mit bestimmten Farbstoffen ist sicher kein Reagens auf Kerne; es gibt keine „Kernfarbstoffe"; aber es ist eine Eigenschaft der Kerne, manche Farbstoffe, die auch alle anderen Theile des Protoplasten färben, relativ leicht aufzunehmen und relativ stark festzuhalten. Die Kerne der Pilze nehmen nun Jod und Rutheniumroth relativ leicht auf, wenn man letztere auf die

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05158-0233-3

lebenden Zellen einwirken lässt, und so ist es auch von Bedeutung für die Frage nach der Kernnatur des in den lebenden Sporenstäbchen sichtbaren Körnchens, dass es sich gegen diese Reagentien wie die Pilzkerne (Figg. 17 und 18) verhielt. Mittels der Jod- und Ruthenium methode gelang es mir nun, wie ich zeigte, den in der Spore vorkommenden kernartigen Gebilden ganz ähnliche auch in den Ruhestäbchen und Schwärmern zu sehen, und da ich fand, dass ihre Zahl und Vertheilung in den normalen und anormalen Fällen so war, wie sie für Zellkerne erwartet werden durfte, so glaube ich, dass damit der Wahrscheinlichkeitsbeweis dafür geliefert ist, dass diese Gebilde Zellkerne sind.

Das Grössenverhältniss zwischen diesen Zellkernen und den Bacterienzellen ist ungefähr gleich dem, welches bei den Pilzhyphen vorliegt (Fig. 28 und Fig. 17), und der Kern deshalb so klein, dass es mit den jetzigen Hilfsmitteln wohl nicht möglich sein wird, feinere Strukturen in ihm zu erkennen und ihn im Zustand der Theilung sicher aufzufinden.

Ich benutzte gerade die Färbung mit Rutheniumroth und mit Jod zum Aufsuchen der Kerne in den Schwärmestäbchen und Ruhestäbchen deshalb, weil sie erlauben, die Bacterienkerne in frischem Zustande zu färben, und dieses vortheilhaft ist, da beim Eintrocknen Schrumpfung der Zellen eintritt, ferner deshalb, weil sie unter Umständen ergastische Gebilde recht schwach färben. Ich bin jedoch durchaus der Meinung, dass sich die Kerne der Bacterien in gut gehärteten Präparaten mit gewöhnlichen Kernfärbemitteln färben lassen. Bei Fischer (1897) findet sich auf Tafel III (Fig. 76) ein Bild von jungen Sporenstäbchen des Bacillus Anthracis; die Stäbchen sind mit Jodalkohol fixirt und zwei Minuten mit unverdünntem Delafield-schen Hämatoxylin gefärbt, und man erkennt darin die junge Sporenanlage mit ihrer von Plasmafäden durchzogenen Vacuole und in der dichten peripheren Plasmamasse derselben ein röthlich gefärbtes Korn. Es erscheint mir nicht unwahrscheinlich, dass dieses Korn der Zellkern ist, ebenso könnten dieselben Gebilde in Fig. 75 vielleicht gefärbte Zellkerne sein.

So können wir also jetzt mit Gewissheit sagen, dass die Bacterien einen Protoplasten besitzen, welcher in seiner Morphologie dem Protoplasten der septirten Hyphenzellen der Eumyceten sehr ähnlich ist.

Damit fällt die Annahme, dass die Bacterien einen noch undifferenzirten Protoplasten (Archiplasten) besässen, die von verschiedenen Forschern (z. B. Nadson, Mitrophanow) gemacht

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05158-0234-8

wurde, ebenso wie die Behauptung Bütschli's (1896) und Zettnow's (1897), dass diese Organismen der Hauptmasse nach aus Kernsubstanz und nur aus einem Minimum von Protoplasma beständen, sowie der auf diese Ansichten gestützte Schluss über den Bau der „ursprünglichsten Organismen" (Bütschli 1896, S. 76).

Mit dem Schwinden der Anhaltspunkte für die Existenz kernloser Organismen findet eine Meinung, die ich mir schon aus anderen Gründen gebildet habe, die, dass für die Entwickelung der Lebenserscheinungen ein System von mindestens zwei grösseren, von einander verschiedenen, gegen einander abgeschlossenen Massen, Organen, **nöthig** sei, welche mit einander in Wechselwirkung treten können, dass ein in sich abgeschlossenes moleculares System überhaupt nicht fähig ist, die Reactionen zu zeigen, welche wir Leben nennen, mehr und mehr Stütze.

3. Die Plasmaverbindungen der Bacterien.

Plasmaverbindungen waren bisher bei den „eigentlichen" Bacterien nicht nachgewiesen. Es liegen aber thatsächlich hier dieselben Verhältnisse vor wie bei den Eumyceten. Dort wie bei den Bacterien findet die Bildung der Querwände der Zellfäden succedan, die erste Anlage der Zellwand in Ringform statt, so dass selbstverständlich während des Wachsthums der Zellwand eine protoplasmatische Verbindung zwischen den Einzelzellen besteht; bei den Eumyceten bleibt diese Verbindung zwischen den Hyphen erhalten, denn die Querwände der Hyphen schliessen sich niemals völlig. Das Letztere scheint aber nun auch bei den Bacterien der Fall zu sein, da, wo sich bei ihnen kurze oder längere Zellfäden finden.

Was meines Wissens bisher über diese Dinge bekannt war, will ich erwähnen. Alfred Koch (1888, S. 317) sagt:

„Wenn man nun aber jugendliche Fäden des Bacillus tumescens am Deckglase antrocknen lässt, mit Methylenblau färbt und in Canadabalsam legt, so sieht man die Zwischenräume zwischen den Fadenstücken ungefärbt bleiben, dagegen erscheint aber im Centrum jedes Zwischenraumes von einem blau gefärbten Fadenstück zum andern verlaufend eine sehr feine blaue Linie. Es fehlt zur Zeit jeder Anhalt zur Entscheidung darüber, was diese Linie vorstellt, ob dieselbe vielleicht eine Protoplasmaverbindung zwischen benachbarten Fadenstücken darstellt oder dem Zusammentrocknen der gequollenen Zellquerwand infolge der Präparation ihr Dasein verdankt."

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05158-0235-4

Auch ich weiss nicht zu sagen, ob Koch Plasmaverbindungen oder Schleimfäden unter den Augen hatte; beides ist möglich. Migula (1894) beschreibt den Vorgang der Theilung der Zellen, aber er zeichnet in Fig. 12 der Tafel II die Membran zuletzt völlig geschlossen, und wie ich in seinem eben erschienenen Buche (1897, S. 83) finde, meint er auch, dass die Membranringe zuletzt zusammenschliessen. Bütschli (1890) gibt ein Bild für Cladothrix dichotoma (Fig. 11), welches zeigt, dass die Zellen in Einschnürung begriffen sind. Er sagt darüber nichts, bemerkt aber auf S. 24 von anderen Bacterien, die er mit Cladothrix vergleicht: „Diese Bacterien fanden sich entweder zu Zoogloën vereinigt oder bildeten Fadenzüge, in welcher die Einzelzellen in gewissem Abstand von einander ohne erkennbare Verbindung aufgereiht waren." Fischer (1897), welcher S. 111 mit Bezug auf Bütschli's Angaben sagt: „Aus der Abbildung ersieht man deutlich, dass durch den Alkohol der Inhalt schwach contrahirt war, weshalb auch die durch die Querwände gehenden protoplasmatischen Verbindungen der Glieder sichtbar wurden", und ferner: „Da Jodalkohol zuweilen doch auch noch schwache Contractionen hervorruft, so sieht man nicht selten auch die protoplasmatischen Fäden zwischen den Nachbargliedern" —, also deren Plasmaverbindungen ebenfalls gesehen hat, legt so wenig Werth auf diese Thatsache, dass er die Fäden nicht in seiner Abbildung auf Tafel III Fig. 73 und 74 widergibt. Für mich hatten die feinen Plasmafäden, welche ich oft lange Zeit zwischen den Schwärmern und Ruhestäbchen der Astasia bestehen bleiben sah, grosses Interesse, weil sie mir zeigten, dass bis in die Reihe der einfachsten Organismen hinein das von mir schon früher (1896, S. 212) erörterte Princip Geltung behält, dass das Cytoplasma der Zellen, die ein Euindividuum bilden, in Zusammenhang bleibt.

An grossen Wasserbacterien lässt es sich leichter als bei Astasia sehen, dass zwischen den Zellen von Zellfäden Plasmaverbindungen vorkommen. In Sumpfwasser, dem ich eine rohe Kartoffelscheibe zusetzte, stellten sich stets grosszellige Fäden ein, welche aus 12 bis 25 Zellen bestanden und vielleicht auch einer Cladothrix angehörten. Wurde zu einem mit Osmiumsäuredämpfen behandelten Präparate dieses Spaltpilzes Methylenblau zugesetzt, so färbten sich die Zellen nach einigen Stunden blau und die Plasmafäden traten so scharf hervor, wie es in Fig. 54 dargestellt ist; ebenso scharf sah man die Fäden, wenn man das eingetrocknete und in der Flamme fixirte Präparat mit Carbolfuchsin färbte. Die Membran nahm dabei die

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05158-0236-0

Farbstoffe nicht auf; sie trat hervor, wenn ich zu den lebenden Zellfäden Jodjodkalium zufliessen liess und erschien dann so, wie es in Fig. 51 dargestellt ist, während Methylviolett eine äussere schleimige Zone der Membran zur Anschauung brachte (Fig. 52).

Es ist also danach zu erwarten, dass man überall da, wo man bei den Bacterien ruhende Zellfäden oder aus mehreren Zellen bestehende Schwärmer findet, auch Plasmaverbindungen wird nachweisen können; besonders leicht wird der Nachweis gelingen, wenn die Querwände gallertartig und damit schwer färbbar werden. Zoogloën, die aus getrennten Individuen bestehen, werden diese Plasmafäden nicht zeigen.

4. Die Sporenbildung.

Die Entwickelungsgeschichte der Bacteriensporen ist bisher nur für eine kleine Zahl von Arten, die sich seit 1889, wo Ludwig Klein sie in seiner Arbeit (S. 57—58) aufzählte, nur wenig vermehrt hat, studirt. Für einige der gut untersuchten Bacterien werden in der Beschreibung der Entwickelungsvorgänge der Sporen Dinge erwähnt, welche mit den Vorgängen, die ich für Astasia beschrieben habe, in Einklang stehen. Es will mir fast scheinen, als verhielte sich der Bacillus E von Peters (1889, S. 438) ganz ähnlich wie Astasia. Peters beschreibt den Vorgang der Sporenbildung für diesen Spaltpilz folgendermaassen: „Zunächst tritt nun die Gliederung im Stäbchen deutlich hervor, darauf erscheinen in dem Plasma feine Körnchen in grosser Zahl. Nun bemerkt man, einem Ende des Stäbchens genähert, eine Plasmabrücke, die sich von dem übrigen Inhalte des Stäbchens, ausgenommen den Körnchen, durch etwas stärkeres Lichtbrechungsvermögen unterscheidet, endlich erscheint an der Stelle dieser Plasmabrücke, zunächst noch schwach umschrieben, die Spore, und zwar sogleich in der endgültigen Grösse. In diesem Punkte scheint also Bacillus E von den bisher genauer beschriebenen, endosporen Bacterien verschieden zu sein, denn soweit überhaupt die Sporenbildung genauer beobachtet wurde, geben die Autoren stets an, dass zunächst ein kleineres, stark lichtbrechendes Körnchen auftritt, welches sich dann unter Vergrösserung zur Spore umbildete. Einen solchen Vorgang habe ich bei Bacillus E nicht entdecken können, vielmehr beobachtete ich stets das beschriebene Verhalten.

Vielleicht kommt der gleiche Sporenbildungsprocess auch bei den von Ludwig Klein (1889, S. 57) beschriebenen Wasserspaltpilzen Bacillus Solmsii, de Baryanus, Peroniella, limosum vor. Klein sagt:

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05158-0237-6

„Für Bacillus Solmsii, die am genauesten untersuchte Form, sei die Sporenbildung zunächst beschrieben. Die verhältnissmässig langgestreckten Glieder dieses Bacillus schwellen gewöhnlich an der Stelle, wo sich die immer endständige Spore bilden soll, leicht an, die erste Andeutung der Spore ist dann darin zu sehen, dass das Plasma dieser Anschwellung, die stets in offener Communication mit dem übrigen Stäbchen bleibt, einen ganz leicht grünlichen Ton erhält (Fig. 4*s*). Darauf contrahirt sich der gesammte Inhalt der angeschwollenen Stelle, sich von der Zellwand loslösend und immer mehr an Lichtbrechungsvermögen zunehmend, mehr und mehr bis zur definitiven Gestalt der bohnenförmigen Endospore, die aber erst später ihren starken Glanz und den ausgesprochenen bläulichgrünen Farbenton erhält. Ob während dieser Contraction noch eine weitere Ernährung der sich bildenden Sporen aus dem übrigen Plasma stattfindet oder nicht, vermag ich nicht mit Bestimmtheit zu sagen, doch halte ich sie nach den bei B. Peroniella gemachten Erfahrungen nicht für besonders wahrscheinlich, jedenfalls nicht für ausgiebig, und glaube, dass die Sonderung des Plasmas in einen sporenbildenden und einen dazu nicht verwendbaren Theil schon vor der Contraction der jungen Sporenanlage stattfindet, dagegen halte ich eine nachträgliche Ernährung der fertig contrahirten Spore für wahrscheinlich.“ — „Ein nicht unbeträchtlicher Theil des Zellplasmas bleibt bei der Sporenbildung stets in der Zelle zurück, was ohne Weiteres schon daraus hervorgeht, dass die Bacillen mit völlig reifen Sporen sich ebenso lebhaft bewegen wie die vegetativen Stäbchen; es ist darum auch selbstverständlich, dass dieses Plasma den cylindrischen Theil des Stäbchens gleichmässig erfüllt und nicht wie bei anderen Bacterien in Gestalt geformter Reste zurückbleibt.“

Ich möchte annehmen, dass Klein die ersten Stadien der Entwickelung der Sporen nicht gesehen hat, was bei der Kleinheit der Dinge und der 1889 noch nicht so weit gediehenen Ausbildung der Objective nicht zu verwundern ist, also auch die Betheiligung des Kernes an der Sporenbildung nicht erkennen konnte. Dann stimmen seine Angaben ganz mit meinen Beobachtungen an Astasia überein, die nun auch leicht begreiflich machen, dass der Wasserbacillus trotz der Sporenbildung sich lebhaft bewegen kann, da in den langen Zellen der Species doch wahrscheinlich immer noch ein Kern, also ein normaler Protoplast neben der Spore erhalten bleibt. Die Angabe von Klein, das ganze Plasma des angeschwollenen Stäbchentheils con-

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05158-0238-2

trahire sich, ist wahrscheinlich unrichtig; es wird wohl ein dünner Plasmabelag zurückbleiben. Interessant für uns ist auch noch folgender Satz aus der Arbeit von Klein: „Ferner ist allen gemeinsam, dass die junge Spore sich in ihrem Lichtbrechungsvermögen noch nicht wesentlich von dem übrigen Plasma unterscheidet; sie ist meist erheblich grösser als die reife und erlangt erst durch Contraction ihre definitive Grösse, wobei es auffällt, dass sie zunächst viel weniger stark lichtbrechend ist, als die vollkommen reife Spore und auch die grünliche Farbe kaum zu erkennen ist. Dieses relativ geringe Lichtbrechungsvermögen der halbreifen Spore, die bereits die definitive Grösse erlangt hat, lässt es nun sehr wahrscheinlich erscheinen, dass auch hier eine weitere Ernährung derselben aus dem übrig gebliebenen Plasma einigermassen ähnlich wie bei den anderen endosporen Bacterien stattfindet, nur mit dem Unterschiede, dass dort diese Ernährung schon bei der ganz jungen und kleinen Spore beginnt, während sie hier erst bei der morphologisch vollkommen ausgebildeten Spore in Erscheinung tritt."

Erwähnen muss ich zuletzt auch die Angaben von Frenzel (1892) über seine sehr grossen Kaulquappenbacillen. Was Frenzel als „Sporenkern", als „kernartiges Körperchen ungefähr von dem Umfange der jungen Spore" (S. 227) bezeichnet und (Fig. 22 *b* und Figg. 10, 13, 14) abbildet, ist kein „Zellkern", sondern die junge Spore selbst, die auch hier anscheinend sehr schnell in Erscheinung tritt, denn sonst würde Frenzel auch kleinere Gebilde gefunden haben und nicht sagen, „dass er plötzlich da sei". Was Frenzel für eine Theilung dieses „Sporenkernes", der jungen Spore, durch Einschnürung erklärt (Figg. 17 und 12), ist wohl ein Kunstprodukt, wahrscheinlich eine plasmolytische Erscheinung oder Schrumpfung der Sporenanlage.

Der von mir für Astasia beschriebene Modus der Sporenentwickelung scheint schon nach dem eben Mitgetheilten nicht selten zu sein, denn von den etwa zehn genauer auf ihre Sporenbildung untersuchten Species würde ihn der vierte Theil zeigen. Da die Untersuchungen, welche den anderen Modus der Sporenbildung beschreiben, den wir noch zu erörtern haben, die älteren sind und vor Peters, unter dem Einflusse von de Bary's Beschreibung der Sporenbildung bei Megaterium entstanden, so ist für mich die Frage nicht unberechtigt, ob nicht die Entwickelung der Sporen in den nun zu erörternden Fällen im Wesentlichen der von mir für Astasia beschriebenen gleich ist.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05158-0239-0

de Bary (1883, S. 502) sagt über die Sporenentwickelung von Bac. Megaterium: „Der Beginn der Sporenbildung in einer Zelle wird angezeigt dadurch, dass, meist dicht an einer Endfläche, in dem Protoplasma ein kleiner, rundlicher, stark lichtbrechender Körper auftritt. Es sieht, um das wenige, was man erkennen kann, rein anschaulich zu beschreiben, zuerst aus, als ob eines der erwähnten stark lichtbrechenden Körnchen im Protoplasma etwas grösser geworden wäre. Besagter Körper nimmt nun zusehends an Volumen zu, während die ihn umgebende Protoplasmamasse successive schwindet. Nach wenigen Stunden ist er herangewachsen zu einem länglich cylindrischen Körper, der sich durch sein späteres Verhalten als Spore erweist." Diese Beschreibung des Vorganges ist nicht in Einklang mit meinen Beobachtungen zu bringen, dagegen schon eher die Angaben von Koch über Bacillus Carotarum (1888, S. 282): „Bald nachdem die Fäden ihre Längswachsthum eingestellt haben und die Zellen derselben aufgeschwollen sind, pflegen die letzteren in ihrem Innern Sporen zu bilden; als ersten Anfang dieses Processes constatirt man das Auftreten eines stärker als das umgebende Zellprotoplasma lichtbrechenden, zunächst aber durchaus nicht scharf umschriebenen Fleckens in den betreffenden Zellen. Derselbe nimmt dann weiterhin den Glanz und die scharfen Conturen der von anderen Bacterienformen beschriebenen Sporen an, um dann erst noch ziemlich beträchtlich sein Volumen zu vergrössern. Es muss hervorgehoben werden, dass in dem Protoplasma der Zellen von Bacillus Carotarum niemals weder in den jugendlichen Fäden noch zur Zeit der Sporenbildung Tröpfchen oder Körnchen bemerkt werden."

Klein (1889, S. 313) beschreibt die Entwickelung der Sporen eines zufällig in Fleischextract-Traubenzuckerlösung gefundenen Spaltpilzes „Bacillus leptosporus Klein" folgendermaassen: „Dieses Feinkörnigwerden des Stäbchenplasmas ist als erstes Zeichen der beginnenden Sporenbildung aufzufassen. Um $12^3/_4$ Uhr (Fig. 12) war die Bewegung vollständig sistirt, die Körnchen waren zum Theil etwas grösser geworden und die Granulirung trat deutlich hervor. In jeder einzelnen Zelle waren meist 1—3 nahezu in einer Reihe liegende, je nach Einstellung stark lichtbrechende oder dunkle Körnchen zu sehen; eine Sporeninitiale liess sich noch nirgends mit Sicherheit unterscheiden. Um 2 Uhr Nachts (Fig. 13; Nachts $1^3/_4$ Uhr. Die Sporeninitialen sind jetzt deutlich zu erkennen, die grösseren Körnchen sämmtlich verschwunden.) hatten sich die Körnchen etwas vermindert, dagegen war in jeder Zelle ein einziger grösserer, runder Körper,

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05158-0240-1

der Anfang der Spore, deutlich zu sehen. Diese Sporeninitialen wuchsen sodann in kurzer Zeit unter Aufnahme des gesammten Inhaltes der Zelle zu den — Endosporen heran —. Schon — Morgens 4 Uhr (Fig. 14) — waren einzelne fertig." Ich möchte fast glauben, dass die in der Reihe liegenden dunklen Körnchen (Fig. 12) Zellkerne und die um 2 Uhr Nachts (Fig. 13) abgebildeten Körper die wie bei Astasia entstandenen membranlosen Sporen waren. Es spricht mir dafür auch die schnelle Fertigstellung der Sporen von 2—4 Uhr. Allerdings würden dann trotzdem, wenn die Abbildung der Körner in Fig. 13 absolut richtig ist, was bei der Kleinheit der Objecte und der Schwierigkeit der Zeichnung der Objecte bei Lampenlicht kaum zu erwarten ist, die Sporenstäbchen nach ihrer Abgliederung, vor der Ausbildung ihrer die Sporen ebenfalls vergrössernden Membran, noch etwas wachsen müssen.

Wenn Zopf (1885, S. 82) für Bacillus tumescens angibt: „Die Sporenbildung kommt in der Weise zu stande, dass die Körnchen durch Zusammenfliessen grösser werden und schliesslich zu einem einzigen, stark lichtbrechenden sich vereinigen", so beruht das doch wohl auf unzureichender Beobachtung und Verwechslung von Reservestoffkugeln und Sporen. Auch Bunge (1895) und Zettnow (1897, S. 84) behaupten ähnliches, meiner Ansicht nach falsches. Ich habe, um selbst den Vorgang der Sporenbildung bei einem Spaltpilze zu beobachten, für den die de Bary'sche Beschreibung gelten soll, Bacterium tumescens genauer beobachtet. Das Material für diese Untersuchung hat mir in liebenswürdiger Weise Alfred Koch gezüchtet, so dass ich auch sicher bin, die richtige Form untersucht zu haben. Von Bacillus tumescens Zopf. sagt Koch (1888, Sep. S. 12): „In den beschriebenen Zellen kommt es nun weiterhin zu mehr oder minder regelmässiger Sporenbildung, die in der Weise vor sich geht, wie sie de Bary für B. Megaterium angibt."

Das Cytoplasma der in Sporenbildung übergehenden Zellen von Bacillus tumescens enthält grössere und kleinere Körnchen, welche stark lichtbrechend sind, in ziemlicher Anzahl. In jeder Zelle lässt sich bei zweckmässiger Behandlung der lebenden Zellen mit ganz verdünnter Methylenblaulösung normaler Weise ein einziger kleiner Körper nachweisen, der wohl der Kern sein wird. Man braucht nur zu einer Kleinigkeit der in ein Tröpfchen Wasser gebrachten, 20 Stunden alten, auf Agar erzogenen Colonie eine Spur Methylenblaulösung seitlich zuzusetzen und die ganz verdünnte Lösung einige Zeit einwirken zu lassen; es färbt sich dann in der lebenden Zelle zuerst dieses kern-

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05158-0241-7

artige Gebilde, dann langsam das Cytoplasma, während die zahlreichen ergastischen Einschlüsse der Zellen ungefärbt bleiben. Wenn die Sporenbildung beginnen soll, so hellt sich die eine Hälfte des Cytoplasmas eines Sporangiums völlig auf, wird körnchenfrei, während die andere Hälfte körnchenreich bleibt. Aus dem bald etwas stärker lichtbrechend werdenden fertilen Cytoplasma des Sporangiums, in welchem man einen Kern nachweisen kann, gliedert sich die Spore unter Entstehung einer zarten Grenzlinie sogleich in ihrer definitiven Grösse ab, stets homogenes Plasma neben sich lassend. Die Sporenanlage wird dann stärker lichtbrechend und hebt sich so schärfer von dem umgebenden Cytoplasma ab, in welchem nun auch wieder ergastische Körnchen auftreten. Später umgibt sich die Spore mit Membran.

Also auch hier, bei Bacterium tumescens, findet die Sporenbildung nach demselben Modus statt wie bei Astasia, und so darf ich wohl nach allem Mitgetheilten den Schluss wagen, dass bei den Bacteriaceen die Entwickelungsgeschichte der Sporen im Sporangium in allen Fällen der Entwickelungsgeschichte der Sporen von Astasia und tumescens und so auch im Allgemeinen der Sporenentwickelungsgeschichte der Ascomyceten gleicht.

5. Systematisches.

Die Frage, welchen der jetzt noch lebenden Organismen die Spaltpilze am ähnlichsten seien und welchen sie verwandtschaftlich am nächsten stehen, ist schon oft berührt worden.

Cohn (1875) sagt über die Verwandtschaftsbeziehungen folgendes: „Ich kann in Bezug auf diese Frage nur wenig den Schlussfolgerungen zufügen, welche ich schon im Jahre 1853 zuerst ausgesprochen habe (Nova Act.): „Die Bacterien scheinen alle ins Pflanzenreich zu gehören, weil sie eine unmittelbare und nahe Verwandtschaft mit offenbaren Algen bekunden.“ Und ferner: „Die meisten Schriftsteller, welche die Bacterien zu den Pflanzen rechnen, bezeichnen sie als Pilze. Das ist richtig, wenn man unter Pilzen eben alle Zellenpflanzen oder Thallophyten zusammenfasst, welche des Chlorophylls oder eines äquivalenten Farbstoffs entbehren und keine Kohlensäure assimiliren. Zu den typischen Pilzen jedoch, welche ein fädiges Mycel entwickeln und sich entweder durch Basidiosporen oder Ascosporen fortpflanzen, haben die Bacterien keine Beziehungen. Dagegen sttimmen sie in ihrem gasammten morphologischen und entwickelungsgeschichtlichen Verhalten mit den Phycochromaceen überein, deren Zellen Phycochrom enthalten. Die Phycochromaceen

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05158-0242-3

unterscheiden sich von den Bacterien nur dadurch, dass sie Kohlensäure assimiliren."

An Cohn schliesst sich Zopf vollständig an, wenn er (1885) sagt: „Die neuesten Untersuchungen an Spaltpilzen und Spaltalgen haben zu dem wichtigen Resultat geführt, dass beide Thallophytengruppen in ihrem gesammten Entwickelungsgange sowohl, als in der Morphologie der einzelnen Entwickelungsstadien eine ausserordentlich nahe Verwandtschaft zeigen, die eine Vereinigung beider Gruppen zu einer einzigen grossen Familie, der Familie der Spaltpflanzen, nicht bloss ermöglicht, sondern sogar als unabweisliche Forderung hinstellt. (Vgl. meine „Morphologie der Spaltpflanzen" Leipzig 1882, wo man die wesentlichen Züge der Affinität beider Gruppen gezeichnet findet, und Cohn, Beitr.)"

Wie Bütschli (1883—87, S. 808) über diese Fragen dachte, geht zuerst aus folgendem Satze hervor: „Nun dürfte es wohl keiner Frage unterliegen, dass dieselben mit denjenigen pflanzlichen Organismen, welche als die typischen Abtheilungen der im Ganzen ja überhaupt noch wenig natürlichen Gruppe der Pilze zu betrachten sind, keine näheren Verwandtschaftsverhältnisse besitzen, im Gegentheil sind die Botaniker geneigt, sie einer Algengruppe, der sog. Schizosporeae näher anzuschliessen, d. h. etwa als die saprophytisch lebende Parallelgruppe dieser Spaltalgen zu betrachten und, wie ich glaube, mit Recht. Dennoch lässt eine Betrachtung der Organisation und Entwickelungsverhältnisse der einfacheren Schizomyceten kaum verkennen, dass auch zu den einfacheren Flagellaten Beziehungen existiren, die sich hauptsächlich daraus ergeben, dass zahlreiche dieser Spaltpilze in ihrem Entwickelungsgang Schwärmzustände besitzen, welche sich durch den Besitz einer bis zahlreicher Geisseln den Flagellaten nähern. Wir haben volles Recht, das Auftreten solcher Schwärmzustände bei den grünen Algen im Allgemeinen auf ihre Abstammung von flagellatenartigen Organismen zurückzuführen, und wir dürfen daher auch eine Ausdehnung derselben Anschauungsweise auf die Schizomyceten nicht als unnatürlich betrachten." Er zieht dann ferner als für die Flagellatennatur der Spaltpilze sprechende Momente die Thatsachen herbei, dass sich die Schwärmer mancher Species während der Bewegung theilen und Sporen bilden können und die Ansicht, dass „die Schwärmzustände gewöhnlich als den nichtschwärmenden ziemlich gleichberechtigte Phasen in der Lebensgeschichte des Organismus aufzufassen" sind. Er weist darauf hin, dass sich bei den Flagellaten häufig eine Tendenz zur schraubigen Aufrollung bemerk-

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05158-0243-8

bar macht, die bei den Spaltpilzen charakteristisch hervortritt, und meint, dass die endogene Sporenbildung wohl mit den endogen entstehenden Dauerzuständen von Monas (Spumella) und Chromulina homologisirt werden könnten.

Schliesslich sagt er (S. 803): „Ein Festhalten der Beziehung der Schizomyceten zu den Flagellaten schliesst nun aber keineswegs aus, dass deren Zusammenhang mit den Schizosporeen unter den Algen ein recht inniger ist. Vielmehr scheint mir dies nur darauf hinzuweisen, dass auch diese Schizosporeae, obgleich in ihrer Lebensgeschichte, soweit dies bis jetzt bekannt ist, der flagellatenartige Schwärmzustand fehlt, dennoch in ähnlichen Beziehungen zu den Flagellaten stehen wie die übrigen einzelligen Algen."

de Bary (1884, S. 315) gibt ein sehr vorsichtiges Urtheil ab, welches sich jedoch an das von Bütschli wesentlich anschliesst. Er sagt, die endosporen Spaltpilze zeigten Anklänge an die Flagellaten, da sie sich z. B. in der Cystenbildung analog verhielten wie diese, „insofern hier die Spore ebenfalls einzeln im Innern des Protoplasmakörpers der Zelle, aus einem Theil dieser entsteht". Er exemplificirt besonders auf die Spumella- und Chromulina-Arten und sagt weiter ausdrücklich: „In dieser zunächst nur analogen Erscheinung auch die Andeutung einer Homologie wenigstens zu vermuthen, dafür ist in den bekannten Erscheinungen kein Grund vorhanden." Er lässt ferner auch die Frage offen, ob die arthrosporen Bacterien sich an endospore verwandtschaftlich nahe anschliessen und betont, dass die arthrosporen Formen mit den Schizophyceen unverkennbar nahe Verwandtschaftsbeziehungen zeigen.

Bezüglich der Stellung der Spaltpilze zu den Pilzen sagt de Bary folgendes: „Was die Stellung der Schizomyceten im System betrifft, so geht aus den mitgetheilten Thatsachen zunächst hervor, dass sie, ihrem Entwickelungsgang nach, zu den Pilzen nähere Verwandtschaftsbeziehungen nicht haben. Die Angaben, wonach sie Abkömmlinge von Pilzen sein sollten, widersprechen allen zuverlässigen Beobachtungen (vgl. Cohn, Beitr. II, S. 188) so sehr, dass auf sie hier nicht näher eingegangen zu werden braucht." Klein (1889, S. 66) schliesst sich an Bütschli und de Bary an.

Fischer (1897, S. 122) erklärt sich auch für die Verwandtschaft der Bacterien und Flagellaten, sagt aber: „Die verwandtschaftlichen Beziehungen der Schwefelbacterien und aller übrigen Bacterien zu den Cyanophyceen sind nur sehr lockere, äusserlich morphologische."

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05158-0244-4

Brefeld (1889, S. 61) bemerkt über die Bacterien folgendes: „Dass weiterhin die Zergliederung bei grösseren Formen von Spaltpilzen, Bacillen etc. mit denen der Oidien grosse Aehnlichkeit haben, mag nur angedeutet sein. Die Aehnlichkeit wird dann noch grösser, wenn die Zergliederung in Stäbchen hinausgeschoben wird, wie es bei Bacillen nicht selten geschieht. Auch die Sporenbildung stört hier nicht, denn diese kommt in ähnlicher Art bei den gleich zu betrachtenden Formen von Nyctalis[1]) als Chlamydosporenbildung Tafel V und VI dieses Heftes ebenso vor. Es fehlen nur die verzweigten Fäden, die durch Spitzenwachsthum wachsen. Ich begnüge mich mit diesen Andeutungen, ohne irgend etwas Weiteres über die Spaltpilze aussagen zu wollen, füge aber hinzu, dass in den bisher bekannten Daten noch kein sicherer Beweis für ihre Selbständigkeit als Pilzform gegeben ist, und dass es nicht wunderbar erscheinen dürfte, wenn mal nachgewiesen wird, dass auch sie nur Entwickelungsglieder von höheren Pilzformen sind, die sich in eigenartiger Formgestaltung frei abgelöst haben."

An Brefeld schliesst sich Johan-Olsen (1897, S. 279) in seiner eben erschienenen Abhandlung an, indem er sagt: „Meine Ansicht geht dahin, dass wir mit Brefeld behaupten können, dass unsere Kenntniss der Bacterien zu gering ist, um irgend ein System zu bilden, dass sie vielmehr nur eine Reihe von Morphen sind, wovon einige jedenfalls als Morphen von bekannten Mycelpilzen gerechnet werden können. Wir können ihnen keine andere Sonderstellung einräumen, als unter den „unvollständig bekannten Pilzen". Die Bildung der Bacterien entspricht der für diese Pilze gewöhnlichen Oidien, Chlamydosporen und Ascosporen." Und: „Wie gesagt, die Theilung bei den Bacterien ist nur eine Oidientheilung. Der andere Bildungsmodus, den wir bei den Bacterien gefunden haben, ist die sog. endogene Sporenbildung. Diese hat Brefeld für vollständig identisch mit der bei nahezu allen Pilzarten vorkommenden Chlamydosporenbildung erklärt. Dieser Fructificationsmodus ist, wie bekannt, durch das ganze Reich der Pilze repräsentirt. Man findet ihn bei den Mucorineae, wo es sich zeigt, dass er im Grunde identisch mit Oidiumbildung ist. Er ist, wie gesagt, am einfachsten noch bei den Uredineae und bei einzelnen Basidiomyceten wie Nyctalis und Fistulina. Bei einzelnen Ptychogaster-Arten[2]) steht er auf demselben Standpunkte wie bei den Bacterien.

---

1) (einem Basidiomyceten).

2) Ptychogaster ist die Chlamydosporenfructification von Oligoporus, einer mit Polyporus nahe verwandten Gattung.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05158-0245-0

Die Sporenbildung einzelner Bacterien kommt jedoch der Ascosporenbildung, z. B. Bac. erythrosporus J.-O., am nächsten. Bei den meisten ist sie einzig und allein Chlamydosporenbildung. Ich will nicht näher auf die Frage eingehen, obwohl die Ascosporenbildung bei vielen Saccharomyceten auch nur als Chlamydosporenbildung aufzufassen ist." Johan-Olsen beschreibt dann kurz das Dematium casei, an dessen Einheitlichkeit ich vorläufig noch zweifeln möchte und sagt am Schluss: „Die Untersuchungen über diesen Pilz werden weiter fortgesetzt, und ich hoffe, dass es mir glücken wird, ihn in einer wirklichen Fruchtform unterzubringen, entweder von Protobasidiomycetes oder Protoascomycetes."

Sucht man sich in dieser Mannigfaltigkeit von Aussprüchen etwas zurecht zu finden und die Ansicht von Johan-Olsen herauszuschälen, so könnte man wohl sagen, er meint, 1. dass die Bacterien zu den Fungi imperfecti zu stellen seien; 2. dass ihre bekannten Entwickelungsstadien entweder zu mit den Basidiomyceten oder Ascomyceten näher verwandten Pilzen gehören könnten; 3. dass die Endosporen der Bacterien meist mit den Chlamydosporen (z. B. denen der Ptychogasten-Arten) identisch seien, dass die einzelner Bacterien der Ascosporen am nächsten kämen.

Nach diesem historischen Ueberblicke über Meinungen, welche über die Stellung der Bacterien im Organismenreiche ausgesprochen worden sind, will ich mittheilen, welche Analogien mir infolge meiner Untersuchungen von Astasia und verwandten Formen aufgefallen sind. Zuerst muss ich dabei hervorheben, dass auch ich wie andere bezweifle, dass alle die Gattungen, welche z. B. Migula (1897, S. 46) unter „Bacteria" zusammenstellt, in naher Verwandtschaft zu einander stehen und dass deshalb alles, was ich über die Stellung von Astasia sagen werde, wohl ohne Weiteres nur auf die Bacteriaceae Migulas ausgedehnt werden kann.

Die grösste Aehnlichkeit scheint mir Astasia mit den Ascomyceten zu zeigen. In der That gleicht ja, wie meine Darstellung zeigt, die Entwickelung der Sporen in den Ruhestäbchen völlig der Endosporenbildung bei den Ascomyceten. Das sporenbildende Stäbchen kann mit Recht ein normaler Weise einsporiges, selten zweisporiges Sporangium genannt werden. Es ist bei den endosporen Bacterien ja ganz allgemein normaler Weise ein einsporiger Ascus, wie wir ihn z. B. bei Pertusaria ocellata unter den Ascomyceten auch kennen, vorhanden. Der Zerfall von Mycelfäden der in Nährlösungen wachsenden Ascomycetenhyphen in

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05158-0246-6

von den Gliedern der Mycelfäden oft kaum oder nicht abweichende ein- oder mehrzellige Stäbchen, wie er bei den Ascomyceten sehr verbreitet ist und z. B. schön bei Calloria fusarioides vorkommt, ist bei den Flüssigkeiten bewohnenden Spaltpilzen eine häufige Erscheinung. Der Bau der Protoplasten dieser Stäbchen ist bei Ascomyceten und Spaltpilzen gleich. Vergleicht man ferner den Entwickelungsgang einer Exoascusart mit der eines endosporen Spaltpilzes, z. B. mit dem von Bacterium tumescens Zopf, so findet man recht weitgehende Analogien. Der Vegetationskörper von Exoascus wächst in dem Wirthsgewebe erst in Hyphenformen, dann aber zerfällt ein derartiger Zellfaden in Einzelzellen, welche zu Sporangien, zu Ascen werden, kann aber auch, wenn wir ihn in Nährlösung bringen, fortgesetzt in Stäbchen (Oidien) zerfallen.

Es sind nur zwei Momente, welche Astasia von den Ascomyceten unterscheidet, einmal der Mangel von Verzweigung der Hyphen und dann die Bildung von „Schwärmoidien". Was den ersten Punkt betrifft, so ist es fraglich, ob echte Verzweigung nicht doch einzelnen Species zukommt, die mit Astasia näher verwandt sind. Es sind schon mancherlei dahin gehende Angaben gemacht worden (siehe z. B. Hueppe 1896, S. 29 und die Angaben von Kutscher und von Zettnow 1897), die jedoch noch alle einer eingehenderen Untersuchung bedürfen. Interessant ist in dieser Beziehung vorzüglich die Angabe von Olav Johan-Olsen (Juli 1897, S. 279) über Bacillus mycoidis, der in sich abgliedernden Stäbchen des verzweigten Luftmycels Endosperm bilden soll. Was mich gegen Johan-Olsen's Angaben sehr misstrauisch macht, ist die gleichzeitige Behauptung, dass Aspergillus in Amöbenform auftreten könne (Fig. 6 seiner Tafel). Die Schwärmoidienbildung ist dagegen eine die Spaltpilze von den Ascomyceten entfernende Eigenthümlichkeit, die überhaupt eine vollkommene Analogie im Pflanzenreiche nicht findet. Aus diesem Grunde möchte ich Astasia und ihre Verwandten nicht etwa zu den Ascomyceten stellen, sondern ich möchte sie nur wegen ihrer morphologischen und physiologischen Aehnlichkeit mit den Ascomyceten, als Schizomyceten neben die Ascomyceten stellen.

Wie weit phylogenetische Verwandtschaft zwischen den Ascomyceten und den Schizomyceten besteht, ist nicht zu sagen. Ich muss dabei bemerken, dass ich an eine monophyletische Entwickelung der Pilze nicht glaube, dass ich vielmehr auf dem Standpunkte derer stehe, die annehmen, dass die grösseren Gruppen der Eumyceten nicht alle mit einander phylogenetisch nahe verwandt sind. Ich meine, dass

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05158-0247-1

die verschiedenen Reihen der Eumyceten sich wahrscheinlich zu verschiedenen Zeiten von recht verschiedenen alten Algenstämmen abgezweigt haben, wie z. B. vielleicht die Ascomyceten von Ahnen der Florideen, manche Oomyceten von jüngeren Oophyceenstämmen etc.

Für die Annahme, dass die Bacterien Fungi imperfecti seien, fehlt bisher ein jeder Anhalt. Es ist zu vermuthen, dass z. B. Astasia keine andere Entwickelungsform mehr besitzt, dass ihr Entwickelungsgang völlig bekannt ist; finden sich doch in ihrem Entwickelungsgange schon drei der Vermehrung der Individuen dienende Morphonten: Oidien, Schwärmoidien und Ascosporen, zu denen in anderen Fällen noch unverzweigte Hyphen hinzukommen als zeitweilige Vegetationsform. Mit den Cyanophyceen haben die Bacteriaceae nur das gemein, dass sich ihre Zellfäden nicht verzweigen und in Stücke zerfallen können; letztere Eigenschaft theilen sie aber auch mit vielen Eumyceten und Chlorophyceen. Selbst die grösste Aehnlichkeit, welche sich zwischen bestimmten Bacterien und bestimmten Flagellaten findet, ist nur eine gänzlich oberflächliche; sie geht nicht so weit wie die Aehnlichkeit zwischen den Schwärmoidien der Bacterien und den Schwärmsporen der Eumyceten. Aehnlich spricht sich auch Migula (1897, S. 238) aus.

Es bleibt mir nur noch übrig, die Stellung der Gattung Astasia unter den Bacterien zu präcisiren und die Gattung Astasia zu definiren.

Von den bis jetzt aufgestellten Systemen der Spaltpilze und den bis jetzt gegebenen Gattungsbegrenzungen ist das von Migula entwickelte unbedingt das vollkommenste. Freilich dürfen wir nicht vergessen, dass Migula's System ein noch durchaus künstliches ist, und dass seine Gattungen, welche sich auf die Begeisselung gründen, mit den Classen des Linné'schen Systemes grosse Aehnlichkeit haben; aber wir dürfen nicht verkennen, dass die Benutzung der Begeisselung als hervorragendes Kennzeichen, welche von Messea, Migula und Fischer, nach Bekanntwerden von Löffler's Methode vorgeschlagen wurde, ein wichtiges Anregungsmittel zur Erforschung der Begeisselung der Spaltpilze ist, und dass es schon von diesem Standpunkte aus zweckmässig ist, wenn wir das System Migula's vorererst ausbauen. Obgleich sehr viele Bacterienspecies leichtsinnig aufgestellt und benannt sind, sind doch wenige bekannt und so wird man wohl auch, wenn Migula den zweiten Band seines Werkes veröffentlicht hat, bald wieder an die Umänderung von Gattungen und Species gehen.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05158-0248-7

Ich möchte deshalb einen einfachen, aber wie ich meine, wichtigen und praktischen Vorschlag für die in der Entwickelung begriffene Systematik der Spaltpilze machen. Ich möchte vorschlagen, dass es für die Spaltpilze nicht gestattet sein soll, einen Speciesnamen zweimal zu vergeben. Sollte aus Unkenntniss ein Speciesnamen zweimal vergeben werden, so erhält der zuerst vergebene den Zusatz *a*, der zu zweit vergebene den Zusatz *b* u. s. w. So wird es möglich werden, die Gattungen beliebig zu verändern, ohne dass die Auffindbarkeit der Species leidet, und es können die Autorennamen wegfallen, damit der Reiz für die Benennung nicht genügend untersuchter Formen.

Ich bilde also die Gattung Astasia in Anschluss an die Gattungen der Bacteriaceae Migula's, möchte jedoch unter Benutzung zweier von Migula und Fischer unrichtiger Weise verworfener Gesichtspunkte zugleich eine Aenderung der Eintheilung der Familie vorschlagen.

Dazu also die folgenden Auseinandersetzungen. Alfred Fischer unterscheidet (1894, S. 84) nur zwischen „polaren" und „diffusen" Geisseln und hält die Unterscheidung von „lateralen" Geisseln für überflüssig. Er sagt: „Nicht immer entspringen die polaren Geisseln am Zellende, sondern an einer Längsseite, meist allerdings dem einen Ende genähert. Polar kann man solche seitenständige Geisseln, die an den Schwärmern von Cladothrix und bei Spirillum sputigenum vorkommen, noch deshalb nennen, weil sie ebenfalls nur an einer einzigen Stelle ansitzen und diese gewissermaassen als Bewegungspol auszeichnen. Sie als laterale Geisseln von den polaren zu unterscheiden, halte ich deshalb für überflüssig."

Auch Migula macht in seinem System keinen Gebrauch von diesem doch für sein System sicher wichtigen Unterschiede zwischen den seitlich und polar stehenden Geisselbüscheln. Er theilt die Bacteriaceae folgendermaassen ein (1896, S. 21):

„A) Zellen ohne Bewegungsorgane — 1. Bacterium.
B) Zellen mit Geisseln
a) Geisseln über den ganzen Körper zerstreut — 2. Bacillus.
b) Geisseln polar — 3. Pseudomonas."

Pseudomonas charakterisiert er folgendermaassen: „Pseudomonas Migula.

Kürzer oder länger cylindrische Zellen, welche zuweilen kleine Fäden bilden, lebhaft beweglich mit polarer Begeisselung. Die Zahl der an einem Pol stehenden Geisseln schwankt bei den verschiedenen

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05158-0249-6

Arten zwischen 1—10 und ist am häufigsten 1 oder 3—6. Endosporenbildung kommt vor, aber nur bei wenigen Arten.

Eine Trennung der hierher gehörigen Arten in zwei Gattungen, je nachdem am Pol nur eine Geissel oder ein Büschel von Geisseln steht, wie dies von Fischer vorgeschlagen wurde, ist unthunlich, da alle Uebergänge zwischen streng eingeisseligen und vielgeisseligen Arten vorhanden sind."

Zu dem letzten Satze möchte ich sogleich bemerken, dass man sehr wohl die normal eingeisseligen Formen von den übrigen trennen kann, wenn auch Uebergänge vorkommen zwischen ihnen und den mehr oder weniger streng mehrgeisseligen; es liegt uns ja bei der Bestimmung der Bacterien eine grosse Anzahl von Individuen vor, nicht weniger, wie bei den höheren Pflanzen, und wir können deshalb hier auch leicht die „Normalform" feststellen und die Variationsweite der Species mit in die Charakteristik der Species und Gattung aufnehmen. Ich möchte trotz der nochmals von Migula (1897, S. 121 und 135) angegebenen Gegengründe, schon im Interesse der genaueren Untersuchung der Species vorschlagen, dass man die Gattung Pseudomonas von Migula fallen lässt und die von Fischer für die Unterfamilie eingeführten Namen Bactrineum (für in der grössten Mehrzahl eingeisselige Formen mit Polgeissel) und Bactrilleum (für diejenigen Formen, welche in der Regel mehr als eine Geissel am Pole tragen) als Gattungsnamen benutzt. Für den Vorschlag von Migula (1897, S. 121), die beiden Gattungen eventuell Pseudomonas und Vibrio zu nennen, würde ich nicht stimmen, da wir bei Annahme des Vorschlags von Migula zwei Gattungen Pseudomonas in der Litteratur haben würden.

Es scheint mir aber doch, um auf unser Hauptthema zurückzukommen, dass man die auffälligen und normal seitenständigen Geisselbüschel und die polständigen Geisselbüschel aus einander halten müsse. Bei der geringen Zahl der morphologischen Merkmale, welche zur Charakterisirung der Bacterienspecies brauchbar sind, dürfen wir keine morphologische Eigenschaft der Species vernachlässigen, welche normal constant ist. In den zahlreichen gefärbten Präparaten von Astasia, welche ich untersuchte, fand ich kein einziges Individuum, bei dem ein Geisselbüschel genau am Pole eines Stäbchens sass, normaler Weise (in den allermeisten Fällen) aber waren die Geisselbüschel deutlich seitlich inserirt, sehr selten dem Pole so genähert, dass man sie als fast polständig bezeichnen konnte. Im Gegensatz zu dieser Form mit normaler Weise

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05158-0250-7

seitlichen sitzenden Geisselbüscheln, gibt es zahlreiche Formen, bei denen die Geisselbüschel normaler Weise, also bei der überwiegenden Mehrzahl der ausgebildeten Individuen, polar stehen und sich in die Achse der Stäbchen stellen, wenn auch an einzelnen, anormalen oder noch in Entwickelung begriffenen Individuen seitlich stehende Geisselbüschel gefunden wurden.

Von diesen Gesichtspunkten aus halte ich die Aufstellung der Gattung Astasia (ἀστασία das Wackeln) für zweckmässig, welche durch 1—2 lateral stehende Geisselbüschel der Schwärmstäbchen ihrer Species charakterisirt wird. Danach würde ich die Bacteriaceae Migula's in folgender Weise eintheilen.

Familie der Bacteriaceae.

Unterfamilie Bacterieae: Zellen stets ohne Bewegungsorgane.

1. Gattung Bacterium:

Unterfamilie Bacilleae: Geisseln der Schwärmer über den ganzen Körper zerstreut.

2. Gattung Bacillus:

Unterfamilie Pseudomonateae: Geisseln der Schwärmer polar.

3. Gattung Bactrineum: Schwärmer normaler Weise mit einer Geissel.

4. Gattung Bactrilleum: Schwärmer normaler Weise mit mehr als einer Geissel.

Unterfamilie Astasieae: Geisselbüschel der Schwärmer seitlich.

5. Gattung Astasia: Ein bis zwei seitliche Geisselbüschel an den normalen, einzelligen Stäbchen.

Botanisches Institut der Universität Marburg, im Juli 1897.

Inhaltsübersicht.

I. Astasia asterospora A. M.
1. Cultur der Astasia asterospora S. 186.
2. Die Entwickelungsgeschichte u. Morphologie von Astasia asterospora. S. 189.
3. Die Sporen. S. 190.
4. Die Schwärmer. S. 194.
5. Die Ruhestäbchen vor der Sporenbildung. S. 204.
6. Die Sporangien. S. 208.

II. Allgemeine Bemerkungen.
1. Die Sporen. S. 217.
2. Der Protoplast der Schwärmer und Ruhestäbchen. S. 220.
3. Die Plasmaverbindungen der Bacterien. S. 229.
4. Die Sporenbildung. S. 231.
5. Systematisches. S. 236.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05158-0251-2

Litteratur.

Babes, Beobachtungen über die metachromatischen Körperchen, Sporenbildung, Verzweigung, Kolben- und Kapselbildung pathogener Bacterien. Zeitschrift für Hygiene XX, 1895.

de Bary, Vergleichende Morphologie und Biologie der Pilze, Leipzig 1884.

Brefeld, Oscar, Untersuchungen aus dem Gesammtgebiete der Mykologie VIII, Leipzig 1889.

Bunge, Ueber Sporenbildung bei Bacterien. Fortschritte der Medicin 1895, Bd. XIII, Nr. 20, S. 813.

Burchard, Dissertation. Karlsruhe 1897. Citirt bei Migula 1897, S. 188.

Bütschli, O., Bronn's Classen und Ordnungen des Thierreiches. I. Bd. II. Abth., 1883—87.

— — Ueber den Bau der Bacterien und verwandter Organismen. Leipzig 1890, Winter's Verlagshandlung.

— — Weitere Ausführungen über den Bau der Cyanophyceen und Bacterien, Leipzig 1896.

Cohn, Untersuchungen über Bacterien. Beiträge zur Biologie der Pflanzen I. Bd. 1875, S. 127.

Ernst, Ueber Kern- und Sporenbildung der Bacterien. Zeitschrift f. Hygiene V, 1889.

Fischer, Alfred, Die Plasmolyse der Bacterien. Berichte über Verh. d Kgl. sächs. Wissensch. zu Leipzig, Math.-physik. Classe, 23. Bd., S. 52, 1891.

— — Untersuchungen über Bacterien. Pringsheim's Jahrbücher für wissenschaftliche Botanik Bd. 27, Heft 1, 1894.

— — Untersuchungen über den Bau der Cyanophyceen und Bacterien. Jena 1897.

Flügge, Die Mikroorganismen. I. Theil 1896, Leipzig, Vogel.

Frenzel, Ueber den Bau und die Sporenbildung grüner Kaulquappenbacillen. Zeitschrift für Hygiene, Bd. XI, 1892, S. 207.

Grethe, Ueber die Keimung der Bacteriensporen. Separatabdruck aus Fortschritte der Medicin Bd. 19, 1897.

Hueppe, Naturwissenschaftliche Einführung in die Bacteriologie, Wiesbaden 1896.

Ilkewitz, Ueber die Kerne der Milzbrandsporen. Bact. Centralblatt XV, 1894, S. 260.

Klein Ludwig, Botanische Bacterienstudien I. Centralblatt für Bacteriologie VI, 1889, S. 313.

— — Ueber einen neuen Typus der Sporenbildung bei den endosporen Bacterien. Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. 1889, VII, S. 57.

Koch Alfred, Ueber Morphologie und Entwickelungsgeschichte einiger endosporer Bacterienformen. Botanische Zeitung 1888, Nr. 18, S. 277.

Löwit, Zur Morphologie der Bacterien. Centralblatt für Bacteriologie 1896, XIX, Nr. 18/19.

Messea, Revista d'igiene e sanitá publica, 1890, 11.

Meyer Arthur, Die Plasmaverbindungen und die Membran von Volvox globator, aureus und tertius mit Rücksicht auf die thierischen Zellen. Bot. Zeit. 1896, Heft XI u. XII, S. 187.

Migula, W., Arbeiten aus dem bacteriologischen Institut der technischen Hochschule zu Karlsruhe I. Bd. 1. Heft, 1894, S. 139.

— — Schizomycetes. In Engler und Prantl: Die natürlichen Pflanzenfamilien, 1896, 129. Lieferung, S. 3.

— — System der Bacterien. Jena 1897.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05158-0252-8

Johan-Olsen, Olav, Zur Pleomorphismusfrage. Centralblatt für Bacteriologie II. Abth. 1897, Nr. 11/12, Bd. III, S. 273.
Peters, Die Organismen des Sauerteigs und ihre Bedeutung für die Brotgährung. Bot. Zeit. 1889, S. 405.
Prazmowski, Untersuchungen über die Entwickelungsgeschichte und Formentwickelung einiger Bacterien-Arten. Leipzig, Hugo Voigt, 1880.
Schottelius, Beobachtungen kernhaltiger Körper im Innern der Spaltpilze. Centralblatt für Bacteriologie 1888, IV. Bd., Nr. 23.
Trambusti und Galotti, Neuer Beitrag zum Studium der inneren Struktur der Bacterien. Centralblatt für Bacteriologie und Parasitenkunde XI. Bd., 1892.
Wahrlich, Bacteriologische Studien. Petersburg 1890—91.
Zettnow, Ueber den Bau der grossen Spirillen. Zeitschr. für Hygiene, 1897, 24. Bd. S. 72.
Zopf, Die Spaltpilze, 1885.
— — Beiträge zur Physiologie und Morphologie niederer Organismen. I. Heft, 1892, S. 93.
Zukal, Ueber den Zellinhalt der Schizophyten. Sitzb. d. math.-phys. Cl. d. Kaiserl. Akademie der Wissensch. zu Wien 1892, 101. Abth. I., Heft 1—3, S. 301.

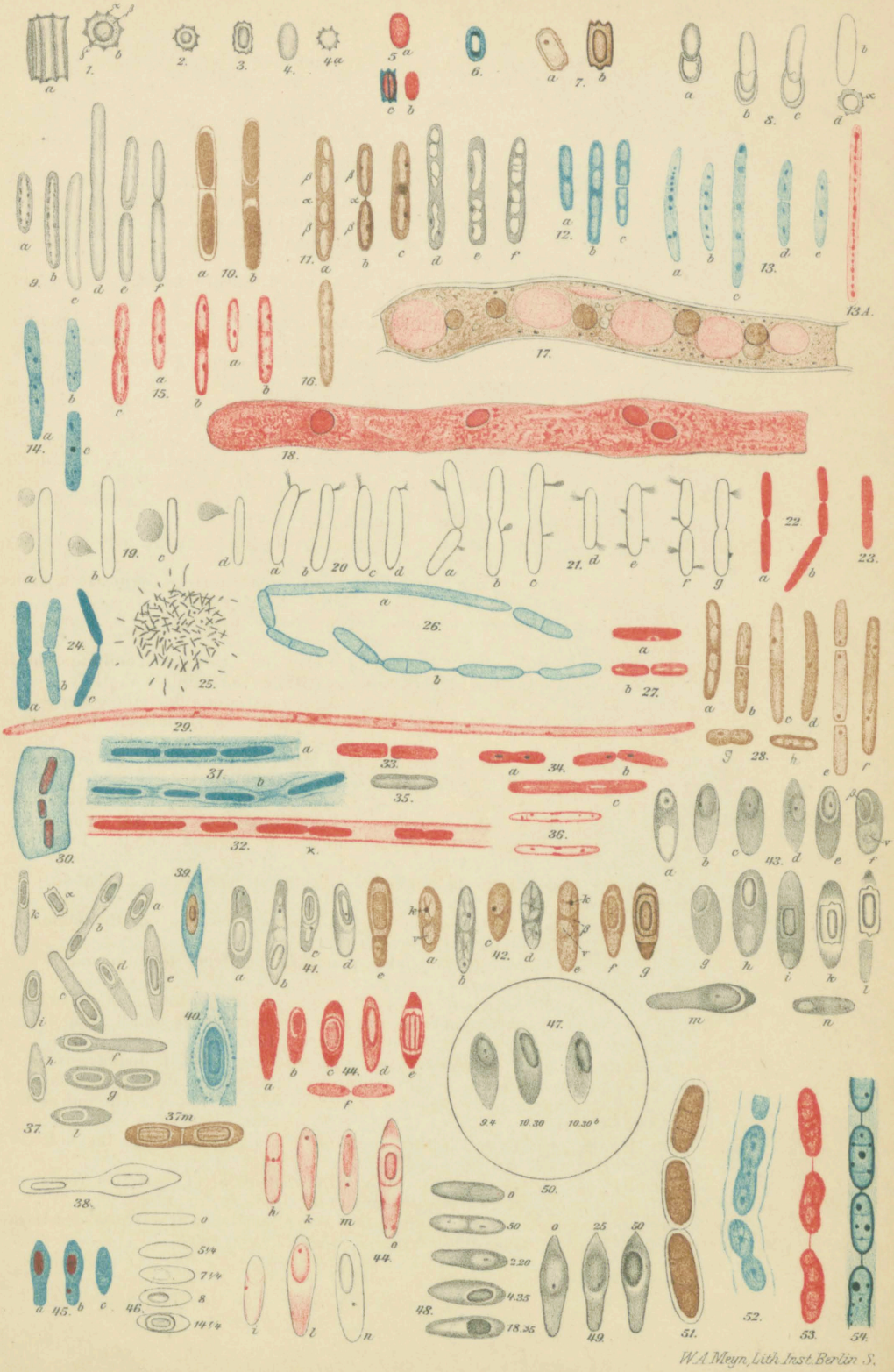
Figurenerklärung.

Fig. 1. Schematische Darstellung des Baues der Spore; α Exine, β Intine der Sporenmembran; γ Stäbchen.
„ 2. Spore in Wasser liegend, von oben gesehen, hohe Einstellung; 1880.
„ 3. Spore in Wasser liegend, Längsansicht; 1880.
„ 4 und 4*a*. In Schwefelsäure liegende Sporen; 1880.
„ 5. Spore mit Carbolfuchsin gefärbt; 2400.
„ 6. Nach Heidenhain gefärbte Spore mit dunkelblau gefärbter Höhlung zwischen der Membran und dem Stäbchen; 1880.
„ 7. Sporen direct, lebend, mit Jodjodkalium gefärbt; *a* inhaltsarme anormale Spore mit kernartigem Punkte; *b* normale Spore mit im lebenden Zustande stark lichtbrechendem Stäbchen; 2400.
„ 8. Keimende Spore; in *d* ist die Sporenmembran α, an welcher das Stäbchen β noch fest hing, vermuthlich mittelst eines Schleimfädchens, von oben gesehen gezeichnet; 1880.
„ 9. In der Nährflüssigkeit schwimmende, lebende Schwärmer; 1880.
„ 10. Mit Salpeterlösung plasmolysirte, mit Jodjodkalium gefärbte Schwärmer; stärker vergrössert.
„ 11 *a—f*. Mit Jodjodkalium relativ dunkel gefärbte Schwärmstäbchen; 2400.
„ 12 *a—c*. Lebend mit Methylenblau gefärbte Schwärmer.
„ 13. Schwärmer nach Heidenhain gefärbt, bei mittlerer Einstellung.
„ 13 *A*. Schwärmer mit Carmalaun gefärbt, nach Einbettung in Gelatine und Härtung mit Osmiumsäure und Formalin.
„ 14. Schwärmer nach Gram gefärbt.
„ 15. Schwärmer mit Rutheniumroth gefärbt, mit Zellkernen.
„ 16. Schwärmer schwach mit Jod gefärbt, mit Zellkernen.
„ 17. Zelle aus dem Mycel von Hypomyces rosellus, lebend mit Jodkalium gefärbt.
„ 18. Zelle von Hypomyces mit Rutheniumroth gefärbt; 2400.
„ 19. Schwärmer mit abgeworfenen Geisselbüscheln; Tanninbeize.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05158-0253-4

Fig. 20. Schwärmer mit nach Löffler gefärbten Geisselbüscheln.
„ 21. Schwärmer aus Culturen in 1 proc. Fleischextract, mit der Tanninmethode gefärbt; 1880.
„ 22. Schwärmer mit Tanninlösung gebeizt und mit Carbolfuchsin gefärbt, Geisseln abgefallen.
„ 23. Mit 0,5 proc. Salpeterlösung eingetrockneter, dann mit alkohol. Safranin gefärbter Schwärmer.
„ 24. Mit Osmiumsäure gehärteter, eingetrockneter, mit Hämatoxylin gefärbter Schwärmer.
„ 25. Aus Schwärmern entstehende, kugelförmige Ruhestäbchencolonie; schwach vergrössert.
„ 26 *a* u. *b*. Lebend mit Hämatoxylin gefärbte Ruhestäbchen; Membran und Schleimfäden blau gefärbt.
„ 27. Ruhestäbchen mit Rutheniumroth gefärbt; *a* durch Erwärmen, *b* durch Osmiumsäuredampf fixirt.
„ 28. Mit Jodjodkalium gefärbte Ruhestäbchen; 2400.
„ 29. Mit Rutheniumroth, nach Osmiumbehandlung, gefärbtes langes Ruhestäbchen aus alter Möhrencultur; 2400.
„ 30. Ruhestäbchen mit dicker, dichter, mit Hämatoxylin gefärbter Schleimhülle; 1880.
„ 31 *a* u. *b*. Ruhestäbchen aus 3 Tage alter Cultur, lebend mit Methylviolett in 30 proc. Alkohol gefärbt; 1880.
„ 32. Schleimscheide mit darin liegenden Stäbchen, durch Magdalaroth gefärbt, in Glycerin liegend; 1880.
„ 33. Ruhestäbchen, mit Wasser erhitzt, mit Rutheniumroth gefärbt, bei tiefer Einstellung; 2400.
„ 34. Ruhestäbchen nach Heidenhain und mit Magdalaroth gefärbt; *a*, *b* bei hoher, *c* bei tiefer Einstellung.
„ 35. Ruhestäbchen in Nährlösung liegend; 2400.
„ 36. Ruhestäbchen, welche vor der Sporenbildung abstarben; 2400.
„ 37. Verschiedenartige sporenbildende Stäbchen (Sporangien) mit fast oder ganz fertigen Sporen, in Nährlösung liegend, bei relativ schwacher Vergrösserung gezeichnet; *a* eine Spore.
„ 38. Sporenbildendes Stäbchen; 2400.
„ 39. Sporenbildendes Stäbchen, lebend mit Delafield'schem Hämatoxylin gefärbt; 1880.
„ 40. Sporangium, lebend mit Methylviolett behandelt, mit geschichteter Schleimhülle; 1880.
„ 41 u. 42. Mit Jod gefärbte Sporangien, theilweise in richtiger Farbe, theilweise nur in Bleistift ausgeführt; 2400.
„ 43. Lebende Sporangien in Nährflüssigkeit.
„ 44. Mit Rutheniumroth gefärbte Sporangien.
„ 45. Angetrocknete, mit Carbolfuchsin und Methylenblau gefärbte Sporangien.
„ 46, 47, 48, 49. Sporenentwickelung in lebenden Sporangien. 2400, mit Ausnahme von 46.
„ 50. Umriss eines Zellkernes von Ornithogalum.
„ 51, 52, 53, 54. Zellen von Cladothrix (?) in verschiedener Weise mit Reagentien behandelt.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05158-0254-0



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

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05158-0371-9